

Chimie analytique

TOME 3

méthodes spectrales et analyse organique

M. HAMON / F. PELLERIN
M. GUERNET / G. MAHUZIER

 **2^e édition**

www.biblio-scientifique.net

 **MASSON**

Copyrighted material

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

Chimie analytique

3 méthodes spectrales et analyse organique

M. HAMON / F. PELLERIN
M. GUERNET / G. MAHUZIER

L'ouvrage

- La chimie analytique fait l'objet de trois tomes dans la collection des Abrégés. Ce troisième tome traite des méthodes spectrales et de l'analyse organique.
- Cet ouvrage présente clairement :
 - les principales méthodes spectrophotométriques utilisées en analyse pharmaceutique, biologique et alimentaire ; l'utilisation des spectres moléculaires ; les données essentielles sur les méthodes optiques non spectrales ;
 - deux méthodes spectrales non optiques : les spectrométries de résonances et la spectrométrie de masse ;
 - l'analyse organique élémentaire et fonctionnelle.

Le public

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants de deuxième et troisième cycles des facultés de pharmacie et de médecine. Les étudiants en maîtrise de sciences biologiques le consulteront avec profit.

L'auteur

Michel Hamon, Ferdinand Pellerin, Michel Guernet et Georges Mahuzier sont tous les quatre professeurs de chimie analytique à l'université de Châtenay-Malabry (Paris-Sud).

Les autres tomes de chimie analytique sont :

- *Chimie analytique Tome 1 : Chimie des solutions*
- *Chimie analytique Tome 2 : Méthodes de séparation*

ISBN 2-225-83507-1



Copyrighted material

Chimie analytique

3. Méthodes spectrales et analyse organique

This One



Z3WS-Q4WEDSXT

CHEZ LE MÊME ÉDITEUR

Des mêmes auteurs :

CHIMIE ANALYTIQUE

Tome 1. *Chimie des solutions*, par M. GUERNET et M. HAMON. 1981, 2^e édition, 256 pages.

Tome 2. *Méthodes de séparation*, par G. MAHUZIER et M. HAMON. 1986, 2^e édition, 272 pages.

Dans la même collection :

INITIATION À LA CONNAISSANCE DU MÉDICAMENT, par J.-M. AIACHE, S. AIACHE et R. RENOUX. 1995, 2^e édition, 312 pages.

PHARMACOCINÉTIQUE. Principes fondamentaux, par J.-P. LABAUNE. Préface de J. WEPIERRE. 1988, 2^e édition, 616 pages.

PHARMACOLOGIE, par Y. COHEN. 1997, 4^e édition, 470 pages.

MATIÈRE MÉDICALE. Pharmacognosie, par M. PARIS et M. HURABIELLE.

Tome 1. *Généralités. Monographies (1^{re} partie). Plantes à glucides, à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes* (début). 1980, 280 pages.

Tome 2. *Généralités. Monographies (2^e partie). Plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif; plantes cardiotoniques; plantes antiparasitaires; plantes insecticides; antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale*. 1986, 196 pages.

CHIMIE ORGANIQUE, par M. MIOCQUE, C. COMBET FARNOUX, H. MOSKOWITZ.

Tome 1. *Généralités, séries aliphatiques, biomolécules*. 1997, 5^e édition, 312 pages.

Tome 2. *Série cyclique, biomolécules*. 1990, 3^e édition, 304 pages.

Autres ouvrages :

MANUEL PRATIQUE DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE, par R. ROSSET, M. CAUDE et A. JARDY. 1996, 2^e édition, 4^e tirage, 400 pages.

MANUEL PRATIQUE DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE, sous la direction de J. TRANCHANT. 1995, 4^e édition, 720 pages.

CHROMATOGRAPHIES EN PHASES LIQUIDE ET SUPERCRITIQUE, par R. ROSSET, M. CAUDE, A. JARDY. 1991, 936 pages.

ÉQUILIBRES CHIMIQUES EN SOLUTION AQUEUSE, par R. MAHÉ et J. FRAISSARD. *Collection Enseignement de la Chimie*. 1989, 312 pages.

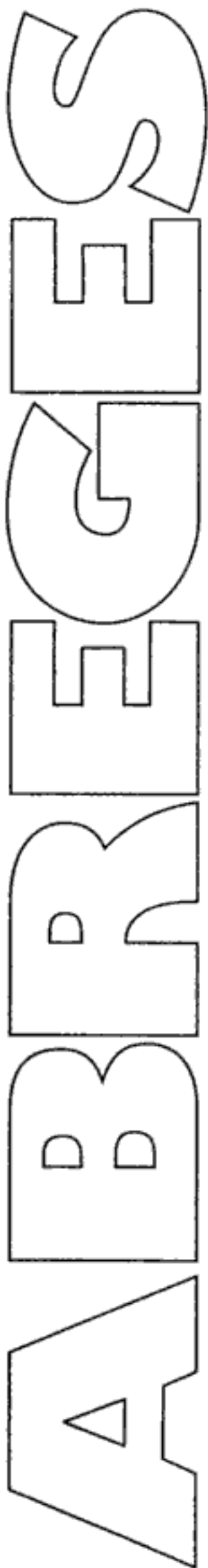
EXERCICES DE SYNTHÈSES ORGANIQUES, par C. ARNAUD. *Collection Enseignement de la Chimie*. 1995, 2^e édition, 352 pages.

ATOMISATION ÉLECTROTHERMIQUE EN SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE, par M. HOENIG et A.-M. DE KERSABIEC. Préface de M. PINTA. 1990, 296 pages.

DOSAGES ABSORPTIOMÉTRIQUES DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX, par G. CHARLOT. 1978, 3^e édition, 448 pages.

PRATIQUE DE L'ANALYSE ORGANIQUE COLORIMÉTRIQUE ET FLUORIMÉTRIQUE, par J. BARTOS et M. PESEZ. 1984, 416 pages.

MÉTHODES CHROMATOGRAPHIQUES COUPLÉES À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE, par J. DE GRAEVE et collaborateurs. 1986, 392 pages.



ABRÉGÉS DE PHARMACIE sous la direction du Pr Y. COHEN

Chimie analytique

3. Méthodes spectrales et analyse organique

M. HAMON
F. PELLERIN
M. GUERNET
G. MAHUZIER

Professeurs à la faculté des sciences
pharmaceutiques et biologiques
de l'université de Paris-Sud

2^e édition révisée et augmentée

MASSON 

Paris Milan Barcelone

Copyrighted material



Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photocopillage ». Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recel, sont passibles de poursuites. Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris. Tél. : 01 44 07 47 70.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle par quelque procédé que ce soit des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© Masson, Paris, 1979, 1990

ISBN : 2-225-83507-1

ISSN : 0761-0211

MASSON S.A. - 120, bd Saint-Germain, 75280 Paris Cedex 06

Copyrighted material

Présentation de la collection des **ABRÉGÉS DE PHARMACIE**

Les Abrégés de pharmacie s'adressent aux étudiants des six années d'études qui conduisent au diplôme d'État de Docteur en pharmacie. Ils sont concis, maniables, économiques et retiennent l'essentiel de la pensée magistrale. Ils bénéficient de l'expérience didactique de leurs auteurs qui sont des enseignants réputés.

Ces auteurs ont fait l'effort de condenser en peu de pages leurs cours. Ils ont su distinguer le fondamental de l'accessoire, écarter l'éphémère du durable. Ils choisissent de garder l'essentiel et d'épargner les jeunes esprits.

Année après année, la collection couvre progressivement l'ensemble des enseignements de pharmacie.

Conçus pour une durée de service aux mains des étudiants, ces Abrégés sont mis à jour au fur et à mesure des besoins dictés par le progrès scientifique, l'évolution de la profession pharmaceutique, l'adoption de nouveaux concepts pédagogiques. Ils s'inscrivent dans la continuité de la collection des Précis de pharmacie que dirigeait notre maître, le regretté Professeur M.-M. JANOT et apportent leur originalité à la bibliothèque de l'étudiant en pharmacie.

Ouvrages du premier cycle ou du deuxième cycle des études pharmaceutiques, leur connaissance est nécessaire pour aborder le troisième cycle pharmaceutique.

La souplesse que nous avons choisie pour cette collection en fait son succès et légitime l'espoir que nous avons placé en elle.

Yves COHEN
Doyen honoraire de la faculté des sciences
pharmaceutiques et biologiques
de l'université de Paris-Sud (Paris XI)

TABLE DES MATIÈRES

<i>Présentation de la collection</i>	V
CHAPITRE PREMIER. — Généralités sur les méthodes optiques	1
Rappels sur les radiations lumineuses	1
Notions quantitatives	2
Énergie d'un photon	3
Intensité lumineuse	4
Interaction entre rayonnement et matière	4
Transitions spectrales	4
Différentes sortes de spectres	6
Définition d'un spectre	6
Spectres continus ou discontinus	6
Spectres de raies — Spectres de bandes	7
Spectres d'émission et d'absorption	7
Différentes régions spectrales	7
Spectres de fluorescence	9
Spectres de diffusion Raman	9
Aspect quantitatif de l'absorption d'un rayonnement : loi de Beer-Lambert	10
Principales sources lumineuses	11
Sources continues	11
Sources discontinues	11
Lasers	11
Transformée de Fourier	12
Autres méthodes optiques	12
CHAPITRE II. — Étude des spectres atomiques (spectres de raies)	13
Étude théorique	13
Règle de sélection pour les transitions électroniques	13
Multiplicité des raies	14
Raies de résonance	14
Ionisation	16
Potentiel d'excitation — Potentiel d'ionisation	17
Proportion d'atomes excités : loi de Boltzmann	18
Largeur des raies	18

Applications analytiques des spectres atomiques	21
Production de la vapeur atomique et excitation des atomes	23
Sélection des radiations	35
Détection et mesure des intensités lumineuses	35
Méthodes utilisant l'émission	35
Spectrométries d'arc et d'étincelle	35
Photométrie de flamme	37
Photométrie de flamme appliquée aux molécules	38
Spectrométrie d'émission par plasma	39
Méthodes utilisant l'absorption : spectrophotométrie par absorption atomique	39
Principe	40
Comparaison avec la photométrie de flamme (par émission)	40
Appareillage	41
Production de la vapeur atomique	41
Source lumineuse	41
Différents types de lampes utilisées	43
Mesure de l'intensité lumineuse non absorbée	45
Correcteur de fond spectral à lampe de deutérium	47
Correcteur de fond par effet Zeeman	47
Fluorescence atomique	48
 CHAPITRE III. — Généralités sur les spectres moléculaires	 51
Énergie d'une molécule	51
Énergie de translation	52
Énergie de rotation	52
Énergie de vibration	53
Énergie électronique	59
Quantification de l'énergie moléculaire	59
Limitation des restrictions quantiques	59
Approximation de la séparation de l'énergie de Born-Oppenheimer ..	60
Niveau énergétique d'une molécule	61
Différents spectres moléculaires	62
 CHAPITRE IV. — Spectres de micro-ondes	 63
Étude quantitative de l'énergie de rotation	63
Calcul du moment cinétique de rotation	64
Conditions de quantification	66
Calcul de l'énergie de rotation	66
Spectre de rotation pure	67
Règle de sélection	67
Caractéristique du spectre	67
Intérêt des spectres micro-ondes	68
Applications analytiques	68

CHAPITRE V. — Spectres infrarouges	70
Étude quantitative de l'énergie de vibration	70
Étude du mouvement de vibration	70
Approximation de l'oscillation harmonique	72
Expression de l'énergie de vibration	73
Conditions de quantification	74
Calcul de l'énergie de vibration dans le cas d'un oscillateur harmonique	74
Cas réel de l'oscillateur anharmonique	75
Spectre de vibration pure	77
Nombre d'onde d'une raie	77
Vibrations harmoniques	77
Étude quantitative de l'énergie de vibration-rotation	78
Spectre de vibration-rotation	79
Nombre d'ondes d'une raie	79
Distance entre les raies du spectre	81
Intérêt des spectres infrarouges dans l'analyse fonctionnelle des molécules polyatomiques	82
Vibration de valence	83
Vibrations de déformation	88
Vibrations harmoniques et bandes de combinaison	89
Instrumentation	90
Matériaux utilisés	90
Appareillage	90
Spectromètres à transformée de Fourier	91
Obtention de spectres; techniques d'échantillonnage	92
Applications de la spectrométrie infrarouge	
Identification d'un composé organique	94
Analyse fonctionnelle	94
Analyse quantitative	95
CHAPITRE VI. — Spectres de diffusion Raman	97
Principe	97
Étude quantitative	98
Mécanisme de la production des raies Raman	100
Notion de polarisabilité	100
Influence des mouvements des atomes d'une molécule sur la polarisabilité	102
Règles de sélection. Vibrations actives en spectrométrie Raman	102
Notions d'appareillage	104
Applications de la spectrométrie de diffusion Raman	105
Microsonde Raman	105

CHAPITRE VII. — Spectres électroniques	106
Spectrophotométrie dans l'ultraviolet et le visible	109
Rappels sur la structure électronique des molécules diatomiques	110
Transitions électroniques	111
Effets de solvant	119
Spectrophotométrie dérivée	126
Spectrofluorométrie	134
Polarisation de fluorescence	145
Principe	145
Applications de la polarisation de fluorescence	150
CHAPITRE VIII. — Spectrométries de résonance magnétique	152
Origine des spectres	152
Spin électronique et spin nucléaire	152
Valeur du spin nucléaire des différents atomes	153
Propriétés magnétique dues au spin	154
Comportement d'une particule douée de spin dans un champ magnétique	155
Énergie des particules douées de spin	157
Résonance magnétique	158
Principe de détermination des spectres de résonance magnétique	159
Phénomènes de relaxation	161
Principaux spectres de résonance magnétique	165
Résonance magnétique nucléaire	165
Fréquence de résonance	165
Champ magnétique efficace	166
Constante d'écran	167
Déplacement chimique	168
Couplage des spins	170
Techniques instrumentales utilisées	176
Applications pratiques des spectres de RMN	177
Notions de résonance paramétrique électronique	188
Principe	188
Applications	189
CHAPITRE IX. — Méthodes optiques non spectrales	191
Réfractométrie	191
Applications analytiques de la polarisation de la lumière	193
Polarimétrie	194
Dispersion rotatoire	195
Dichroïsme circulaire	197

CHAPITRE X. — Spectrométrie de masse	198
Principe	199
Appareillage	199
Description schématique	200
Ionisation	203
Fragmentation	205
Procédés d'ionisation	207
Analyseurs	214
Caractéristiques	214
Différents types d'analyseurs	216
Couplage chromatographie spectrométrie de masse	220
Applications de la spectrométrie de masse	223
Identification d'une molécule	223
Détermination de la masse moléculaire	224
Établissement de la formule brute	224
Établissement de la structure moléculaire	225
Recherche sélective des composés	227
Analyse quantitative	228
CHAPITRE XI. — Introduction à l'analyse organique élémentaire	230
Microanalyse élémentaire	230
Méthodes courantes d'analyse organique élémentaire	232
Méthodes diverses	232
CHAPITRE XII. — Introduction à l'analyse organique fonctionnelle	237
Domaine de l'analyse fonctionnelle	237
Réactions chimiques en analyse organique fonctionnelle	238
Structure et réactivité des molécules organiques	239
Limitation du nombre de réactions applicables	239
Applications analytiques des réactions incomplètes ou non stœchiométriques	240
Formation de dérivés	240
Méthode titrimétriques d'analyse fonctionnelle	241
Formation de dérivés cristallisés	242
Dérivés absorbant dans le visible et l'ultraviolet ou fluorescents	242
Couplage de l'analyse fonctionnelle et de la chromatographie	243
CHAPITRE XIII. — Méthodes générales d'analyse fonctionnelle	245
Détermination de l'hydrogène mobile	245
Protométrie des groupements fonctionnels	247
Acylation (acétylation)	250
Réactions diverses	250
Méthodes spectrophotométriques d'analyse fonctionnelle	251

CHAPITRE XIV. — Analyse des fonctions phénoliques et aminées	258
Fonction phénol.....	258
Méthodes volumétriques et gravimétriques	258
Méthodes spectrophotométriques	259
Fonction amine	262
Réactions analytiques de l'azote basique	262
Réactions analytiques des amines primaires et secondaires	263
Réactions analytiques des amines primaires : formation d'imines ...	263
Dosage différentiel d'un mélange d'amines primaires, secondaires et tertiaires	264
Action de l'acide nitreux.....	264
Réactions diverses	265
Conclusion de l'analyse organique fonctionnelle.....	266

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES OPTIQUES

De nombreuses méthodes analytiques sont fondées sur les interactions entre la matière et une radiation électromagnétique. Il peut s'agir de photométrie dans le visible, l'ultraviolet ou l'infrarouge, voire dans le domaine des rayons X. Les mesures sont réalisées aussi bien sur un liquide ou sur un solide (comme dans les spectrométries d'absorption moléculaire) que sur une vapeur atomique produite par exemple dans une flamme.

Il est également possible d'étudier les diverses spectrométries de résonance magnétique mais aussi les phénomènes de diffusion de la lumière ou de polarisation rotatoire qui sont à la base de déterminations qualitatives et quantitatives importantes.

Avant d'envisager un certain nombre de ces méthodes analytiques, il est opportun de faire quelques rappels concernant les radiations électromagnétiques.

RAPPELS SUR LES RADIATIONS LUMINEUSES

Toute radiation lumineuse est constituée de deux composantes : un vecteur champ magnétique et un vecteur champ électrique, qui sont perpendiculaires et varient d'une façon sinusoïdale. En réalité, chacun de ces deux vecteurs champ, est lui-même le résultat de la composition de deux vecteurs symétriques de longueur constante et animés d'un mouvement circulaire uniforme de sens opposé et de même vitesse (v. p. 159 et p. 194).

La vibration lumineuse se propage dans une direction perpendiculaire aux deux vecteurs pour former une onde lumineuse : c'est le *caractère ondulatoire* de la lumière (fig. 1).

Mais l'existence de cette onde ne peut pas expliquer toutes les propriétés optiques et il est nécessaire de considérer en outre la radiation comme une série discontinue de « paquets » ou « quantum » d'énergie, ou photons : c'est le *caractère quantique* de la lumière. Les interactions entre la matière et la lumière correspondent à l'absorption ou à l'émission par la première de l'un

de ces quanta d'énergie et, dans ce cas, il est nécessaire de faire appel à cette notion de photon. Mais très souvent, l'utilisation du caractère d'onde est plus aisée, notamment lorsqu'interviennent de nombreux photons.

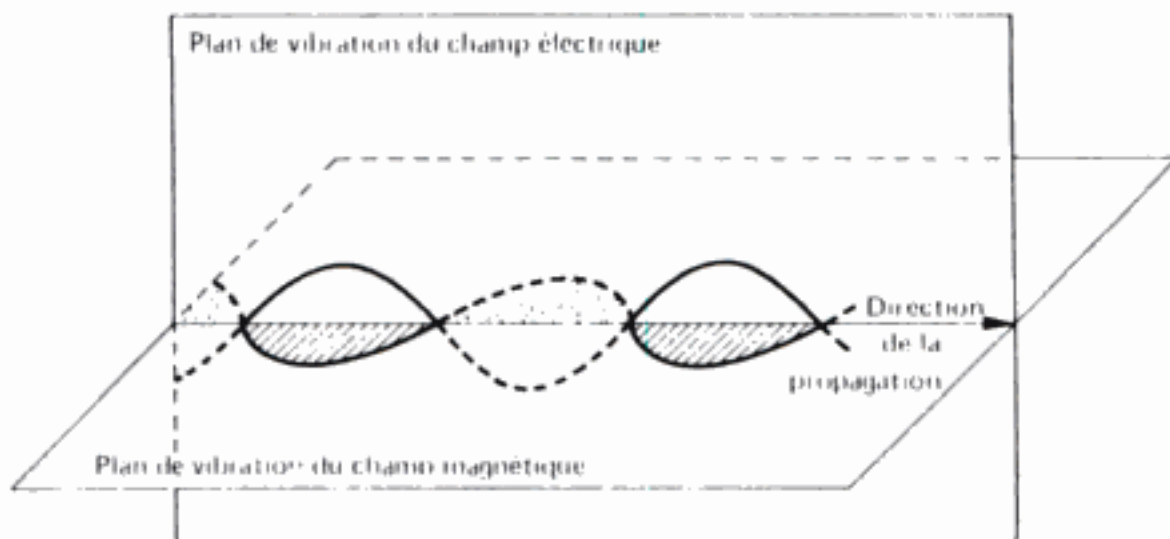


FIG. 1.

Notions quantitatives

Les aspects quantitatifs concernant la radiation lumineuse portent surtout sur le caractère ondulatoire. C'est ainsi que la distance qui sépare deux passages du vecteur champ (électrique ou magnétique) à la même valeur algébrique, est la *longueur d'onde* λ . Cette valeur doit théoriquement être exprimée en système international (SI), c'est-à-dire en mètres, mais dans le domaine lumineux, cette distance est petite et est exprimée en micromètres (μm) correspondant à 10^{-6} m, en nanomètres (nm) correspondant à 10^{-9} m, en micromètres (10^{-9} m) ou même en picomètres (pm) (10^{-12} m)*.

De ce fait, il existe très généralement un certain nombre de longueurs d'onde dans l'unité de longueur. Ce nombre est appelé nombre d'ondes ν' (ou σ) et comme tel il n'a pas de dimension :

$$\nu' = \frac{1 \text{ m}}{\lambda \text{ m}}$$

Mais l'habitude a prévalu de négliger le fait que le numérateur est exprimé en mètre : le *nombre d'ondes* est alors affecté d'une unité qui est l'inverse du mètre ou m^{-1} . Ainsi, à une radiation de longueur d'onde de $1 \mu\text{m}$ (10^{-6} m) correspond un nombre d'ondes de 10^6 m^{-1} . Toutefois, cette valeur est très grande et peu maniable, aussi l'habitude a-t-elle prévalu de conserver dans ce cas l'ancien système C.G.S. et d'exprimer le nombre d'ondes en cm^{-1} . Dans l'exemple choisi, il est de $10\,000 \text{ cm}^{-1}$.

* On utilisait autrefois une unité qui n'est pas cohérente : l'Angström : $1 \text{ \AA} = 0,1 \text{ nm}$.

Outre les notions spatiales, il existe des données temporelles : le temps qui sépare deux passages du champ à la même valeur algébrique est la *période* T . Le nombre de périodes par seconde est la *fréquence*.

$$\nu = \frac{1 \text{ sec}}{T \text{ sec}}$$

L'unité usuelle de fréquence est le hertz (Hz) ou cycle par seconde (c.p.s.) : $1 \text{ Hz} = 1 \text{ c.p.s.}$

Enfin une dernière notion correspond à la vitesse de propagation de cette vibration lumineuse. Dans le vide elle est : $c = 299,79 \times 10^6 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Dans les milieux transparents matériels elle est toujours inférieure à cette valeur. Le rapport n entre les vitesses dans le vide et dans un milieu matériel est l'*indice de réfraction* par rapport au vide, toujours supérieur à 1.

Cette vitesse c est constante et correspond donc au rapport entre l'espace parcouru et le temps mis à le parcourir. C'est-à-dire que :

$$c = \frac{\lambda_0}{T}$$

il en résulte que

$$\nu = \frac{1}{T} = \frac{c}{\lambda_0}$$

Il y a donc proportionnalité entre la fréquence et le nombre d'ondes dans le vide $\nu = c\nu'$.

Dans un milieu matériel la vitesse v de la lumière est $v = \frac{c}{n} = \frac{\lambda}{T}$.

Il en résulte que $\lambda n = \lambda_0$, c'est-à-dire que λ est plus courte que λ_0 .

Énergie d'un photon

L'énergie E d'un photon est directement proportionnelle à la fréquence :

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\nu'$$

où h est la constante de Planck, très proche de $6,6256 \times 10^{-34} \text{ J.s.}$; $h\nu$ est le quantum d'énergie.

Ces équations montrent que l'énergie est inversement proportionnelle à la longueur d'onde, mais en relation directe avec la fréquence et le nombre d'ondes. Ceci explique que l'on préfère actuellement définir les spectres en termes de fréquence ou de nombre d'ondes plutôt qu'en longueurs d'onde.

Mais cependant, pour les zones spectrales connues depuis le plus longtemps, comme le visible ou l'ultraviolet, on continue à exprimer les valeurs des maximums des pics en longueurs d'onde.

Intensité lumineuse

Un rayon lumineux porte une certaine énergie qui est émise par une source et propagée à travers un milieu ou une série de milieux vers un récepteur où il est détecté.

Sur son trajet, le rayon peut subir une absorption partielle, il peut également changer de direction par réflexion, réfraction ou diffraction, ou encore il peut être partiellement ou totalement polarisé.

L'énergie lumineuse émise par unité de temps est le *pouvoir de radiation* parfois improprement appelé intensité. L'*intensité lumineuse* proprement dite est le pouvoir radiant émis à partir de la source par un angle solide unité dans une direction donnée.

INTERACTION ENTRE RAYONNEMENT ET MATIÈRE

Dans le cas des méthodes spectrales, c'est généralement le vecteur champ électrique qui est le plus important. En effet, par définition, si une particule chargée est placée dans ce champ, elle est soumise à une force. Dans le cas du rayonnement électromagnétique, le champ électrique varie d'une façon sinusoïdale. Ainsi une particule chargée (électron ou molécule polaire) située dans la trajectoire du rayon, subit la première moitié d'une période une force la poussant dans une direction donnée et pendant la seconde moitié du cycle, une force la poussant en sens opposé, elle subira ainsi des attractions et des répulsions alternées. Si cette particule est animée d'un mouvement de rotation ou de vibration, il est possible que la fréquence de la radiation électromagnétique soit en phase avec ce mouvement, il en résulte une absorption d'énergie se traduisant par une amplification du mouvement et donc une augmentation de l'énergie du système (résonance).

La fréquence du mouvement est liée à la masse de la particule qui le subit : seules de faibles masses autorisent des fréquences élevées (faible inertie). Il en résulte que les variations d'énergie les plus importantes, correspondant aux fréquences les plus élevées, ne peuvent concerner que les électrons, dont la masse est de beaucoup plus faible que celles des noyaux atomiques et donc des atomes entiers.

Transitions spectrales

Cependant, l'énergie d'une particule qui ne peut se mouvoir que dans un espace très restreint (de l'ordre au maximum des dimensions moléculaires) est limitée à certaines valeurs, contrairement à ce qui se passe pour les objets à notre échelle.

Seules sont donc « permises » certaines valeurs : c'est la quantification de l'énergie. L'énergie ne peut être absorbée ou émise que sous forme de quanta $h\nu$ bien définis, on a alors une transition. Les énergies permises pour un type de mouvement de vibration ou de rotation et pour un atome ou une molécule donné, sont souvent représentées par un diagramme comportant des niveaux horizontaux sur une échelle verticale d'énergie. Ces niveaux correspondent à des états d'énergie stationnaires. Le passage d'un niveau à un autre est schématisé par une flèche verticale dont la longueur est proportionnelle au quantum d'énergie $h\nu$ (v. p. 15).

Tous les états stationnaires possibles n'ont pas la même stabilité. Le plus stable possède le niveau d'énergie le plus faible : c'est l'état *normal* ou *fondamental*. Les autres niveaux correspondent à un gain d'énergie et sont, de ce fait, nommés *états excités*. Tout système excité *doit* revenir à l'état fondamental en perdant l'énergie absorbée : c'est la *relaxation*. Un système à l'état fondamental ne *peut* passer à un état excité que s'il reçoit un quantum d'énergie (photon) exactement approprié.

- **Terme spectral.** — La fréquence ν et donc le nombre d'onde ν' sont tels que le quantum $h\nu$ absorbable correspond à la différence d'énergie entre 2 niveaux.

$$h\nu = E_2 - E_1$$

soit

$$\nu = \frac{E_2}{h} - \frac{E_1}{h} \quad \text{et} \quad \nu' = \frac{E_2}{hc} - \frac{E_1}{hc} \quad *$$

$\frac{E}{hc}$ est appelé *terme spectral*. Le fait que le nombre d'onde correspond à une différence de 2 termes avait déjà été découvert expérimentalement par Balmer et Ritz dans le cas du spectre de l'hydrogène, puis par Rydberg dans le cas des alcalins. Il a conduit à proposer la notion de nombre quantique.

- **Nombres quantiques.** — Sans revenir sur un domaine qui a été étudié en chimie générale, il est utile de rappeler quelques points.

Pour rendre compte de l'existence de termes spectraux dont la différence correspond aux transitions mettant en jeu l'émission ou l'absorption d'un photon, il a été nécessaire de faire intervenir des nombres entiers, dits nombres quantiques.

* Les théories modernes veulent que l'énergie soit considérée comme négative. Il faudrait donc écrire en toute rigueur :

$$\nu = \frac{-E_1}{h} - \frac{-E_2}{h}$$

Dans le cas de l'atome, 4 nombres quantiques existent dont le jeu définit complètement la situation d'une particule (par exemple de l'électron vis-à-vis du noyau). Ce sont :

- le nombre quantique principal n qui doit toujours être supérieur à 0
- le nombre quantique secondaire l qui est inférieur ou égal à $n - 1$
- le nombre quantique magnétique m_l qui est tel que sa valeur est comprise entre $-l$ et $+l$: $-l \leq m_l \leq +l$
- enfin le quatrième nombre quantique ou spin, qui, dans le cas de l'électron, prend des valeurs demi-entières : $\pm 1/2$ et non plus entières.

Très fréquemment et notamment en résonance magnétique, on appelle « nombre quantique magnétique m » la somme du nombre quantique m_l et du spin.

Dans le cas des molécules, d'autres nombres quantiques sont utilisés : les nombres quantiques de rotation J et de vibration v dont les valeurs sont toujours entières.

DIFFÉRENTES SORTES DE SPECTRES

Définition d'un spectre

Lorsque, à l'aide d'un système dispersif : prisme ou réseau, on décompose une lumière quelconque, on observe une suite continue ou discontinue de radiations, dont chacune possède une fréquence bien définie. Une telle radiation est dite monochromatique. Elle correspond à une transition bien définie, telle que nous l'avons étudiée précédemment.

En réalité, une radiation exactement monochromatique est une abstraction, car elle serait infiniment fine et donc inobservable. Ce que l'on peut voir sur un spectre, même si celui-ci est discontinu, ce sont des radiations ayant une certaine largeur, de l'ordre de $0,1 \times 10^{-3}$ nm (0,1 pm) au minimum.

Il est possible de distinguer les spectres en fonction de différents caractères.

Spectres continus ou discontinus

En théorie, tout spectre est composé d'une suite de radiations distinctes, correspondant chacune à une transition déterminée.

En fait, lorsque les différentes radiations monochromatiques sont infiniment nombreuses et rapprochées, le spectre est continu; c'est le cas par exemple du spectre de la lumière solaire.

Dans le cas contraire, où il y a un nombre fini de radiations, le spectre est discontinu.

Spectres de raies — spectres de bandes

Lorsque le nombre de radiations est relativement petit dans un intervalle de longueurs d'onde donné, les *raies* apparaissent nettement séparées et distantes les unes des autres, même si l'on ne dispose que d'un appareil à pouvoir de résolution assez faible. Un tel spectre est dit : spectre de raies.

Au contraire, dans d'autres cas, le nombre de radiations est grand. Les raies apparaissent bien moins séparées et sont regroupées en suites continues constituant des *bandes*, d'où le nom de spectre de bandes.

Cependant, en augmentant le pouvoir de résolution, on se rend compte qu'une bande est constituée par l'association de raies. Il semblerait donc inutile de faire cette distinction. En réalité, elle est très importante, car l'origine de ces 2 types de spectres est différente. Les spectres de raies sont produits par des atomes, les spectres de bandes, par des molécules.

Spectres d'émission et d'absorption

Si le spectre observé présente des raies ou des bandes brillantes sur fond noir, ceci traduit une émission de lumière à la suite d'une transition intéressant l'atome, le radical ou la molécule examinés; il s'agit donc d'un spectre d'émission.

Si au contraire, les raies ou les bandes sont sombres ou mêmes noires sur fond brillant, c'est qu'il y a eu absorption de certaines parties d'un spectre initialement continu. Le spectre observé est un spectre d'absorption.

Comme cela a été vu précédemment, la différence entre les 2 niveaux d'énergie intéressés par une transition donnée est la même, qu'il y ait passage d'un niveau E_1 excité à un niveau E_0 avec émission d'une radiation de fréquence ν , ou qu'il y ait passage du niveau E_0 au niveau E_1 par absorption d'un quantum d'énergie $h\nu$.

La fréquence et donc le nombre d'onde ou la longueur d'onde sont donc exactement identiques dans les deux cas.

Différentes régions spectrales

L'observation de spectres électromagnétiques peut être réalisée dans un très large domaine de fréquences.

Le tableau I donne les limites classiques de ces domaines.

Les domaines dont les fréquences sont les plus grandes, c'est-à-dire où les transitions sont les plus énergétiques, correspondent à des variations concernant les électrons.

Le changement de niveau d'un électron périphérique correspond à l'ultra-violet ou au visible, tant dans le cas des atomes, que des molécules. Si des électrons internes sont concernés, on entre dans le domaine des rayons X.

Tableau I

	Longueurs d'onde		Fréquences (en Hertz)	Nombre d'ondes (cm^{-1})
	Unités usuelles	Mètres		
Rayons X	10^{-3} — 10 nm	10^{-12} — 10^{-8}	10^{20} — 10^{16}	
Ultraviolet lointain	10 — 200 nm	10^{-8} — $2 \cdot 10^{-7}$	10^{16} — 10^{15}	
Ultraviolet proche	200 — 400 nm	$2 \cdot 10^{-7}$ — $4 \cdot 10^{-7}$	10^{15} — $7,5 \cdot 10^{14}$	50 000 — 25 000
Visible	400 — 750 nm	$4 \cdot 10^{-7}$ — $7,5 \cdot 10^{-7}$	$7,5 \cdot 10^{14}$ — $4 \cdot 10^{14}$	25 000 — 13 000
Infrarouge proche	0,75 — 2,5 μm	$7,5 \cdot 10^{-7}$ — $2,5 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{14}$ — $1,2 \cdot 10^{14}$	13 000 — 4 000
Infrarouge moyen	2,5 — 50 μm	$2,5 \cdot 10^{-6}$ — $5 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{14}$ — $6 \cdot 10^{12}$	4 000 — 200
Infrarouge lointain	50 — 1 000 μm	$5 \cdot 10^{-5}$ — 10^{-3}	$6 \cdot 10^{12}$ — 10^{11}	200 — 10
Micro-ondes	0,1 — 100 cm	10^{-3} — 1	10^{11} — 10^8	10 — 10^{-2}
Ondes radio	1 — 1 000 m	1 — 10^3	10^8 — 10^5	

Mais on observe également des variations d'énergie dues à la vibration des liaisons entre atomes constituant la molécule, ou à la rotation des molécules. C'est le domaine de l'infrarouge moyen ou lointain (micro-ondes).

Enfin les variations de spin font intervenir des énergies qui correspondent aux ondes radio. Elles conduisent aux spectrométries de résonance magnétique.

Spectres de fluorescence

Dans le cas où un quantum d'énergie est absorbé par un atome ou une molécule, celui-ci est donc porté à un niveau énergétique plus élevé que le niveau de départ. Ce niveau *excité* est instable et l'énergie acquise doit être éliminée.

Dans le cas de l'atome, et pour le passage au niveau énergétique immédiatement supérieur, il y a réémission d'un photon identique à celui qui a été absorbé, mais dans celui d'une molécule, l'énergie acquise peut être dissipée par un certain nombre de mécanismes : transformation en chaleur, vibrations des atomes constituant la molécule. Il n'y a donc pas normalement de lumière réémise. Cependant, dans certaines structures, où la présence de cycles entrave les mouvements et donc la déperdition d'énergie, une partie de celle-ci est émise sous forme d'une radiation lumineuse pour permettre le retour de la molécule à son niveau d'énergie initiale. C'est le *phénomène de fluorescence* où la radiation émise a une fréquence plus faible que la radiation absorbée. Ceci est compréhensible puisque l'énergie réémise sous forme d'un photon est plus faible que l'énergie absorbée.

C'est ainsi que maints composés organiques, irradiés par une lumière ultraviolette, fluorescent dans le domaine visible.

L'observation des spectres de fluorescence se fait évidemment non pas dans la direction du faisceau lumineux excitateur, mais dans une direction perpendiculaire.

Par analogie, l'observation de lumière réémise par des atomes dans des conditions opératoires identiques est appelée *fluorescence atomique*. Elle est réalisée dans le domaine visible et ultraviolet. Il existe également une fluorescence atomique dans le domaine des rayons X.

Spectres de diffusion Raman

Un phénomène qui présente à première vue quelque rapport avec la fluorescence est l'effet Raman. Ici encore une lumière est émise par un échantillon irradié par une radiation monochromatique, et cette lumière donne un spectre dont les raies présentent des variations de longueur d'onde par rapport à celle de la radiation initiale.

Mais dans la fluorescence, la lumière monochromatique incidente est absorbable par l'échantillon et fait donc partie du spectre de la substance étudiée.

Au contraire, en spectroscopie Raman, la lumière incidente correspond à une

raie qui ne peut pas être absorbée d'une façon appréciable par la molécule étudiée. La variation de longueur d'onde dans l'effet Raman est due à l'extraction d'une certaine partie de l'énergie des photons incidents. Cette énergie est utilisée pour porter les molécules à un niveau énergétique de vibration plus élevé.

ASPECT QUANTITATIF DE L'ABSORPTION D'UN RAYONNEMENT : LOI DE BEER-LAMBERT

Cette loi exprime que la diminution de l'intensité lumineuse (donc du nombre de photons) d'une radiation monochromatique est proportionnelle au nombre de particules (atomes ou molécules) qui absorbent, soit $\frac{dI}{dn} = -kI$, où dI est l'intensité lumineuse absorbée à partir d'une valeur I de l'intensité, par l'augmentation dn du nombre de particules absorbantes. k est une constante. Par intégration entre les limites : I_0 intensité initiale et I intensité finale

$$\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = -k \int_0^N dn$$

on obtient

$$\ln \frac{I}{I_0} = -kN$$

N est le nombre de molécules ayant absorbé, pour un rayon lumineux de section égale à l'unité.

Pour une section de surface s l'équation devient

$$\ln \frac{I}{I_0} = -k'N_s$$

La quantité N_s exprime le nombre de particules ayant réalisé l'absorption.

Il est plus classique de faire appel pour déterminer ce nombre à la concentration et à l'épaisseur traversée par la lumière

$$\ln \frac{I}{I_0} = -k''lc$$

Comme toujours, on passe aux logarithmes décimaux

$$\log \frac{I_0}{I} = A = Elc$$

L'inversion du rapport $\frac{I_0}{I}$ a pour but de supprimer le signe négatif. A est nommé *extinction*, *absorbance*, ou *densité optique*. Le rapport $\frac{I}{I_0}$ est la transmission (transmittance). Il est souvent exprimé en transmission pour cent : $100 \frac{I}{I_0}$.

E est le *coefficient d'extinction ou absorptivité (indice d'absorbance)*. Il est exprimé pour une concentration de 1 % et une longueur de 1 cm.

La Pharmacopée française utilise également une expression dans laquelle la concentration est exprimée en grammes pour cent, on a alors le coefficient $E_{1\text{cm}}^{1\%}$.

Enfin pour tenir compte du poids moléculaire M on utilise l'*absorptivité molaire* ou coefficient d'extinction molaire ϵ :

$$\epsilon = \frac{A \times M}{lc}$$

PRINCIPALES SOURCES LUMINEUSES

Selon les cas, l'analyste a besoin de sources lumineuses qui produisent un spectre continu ou au contraire une lumière monochromatique sélectionnée à partir d'un spectre discontinu.

Sources continues

Les sources les plus habituelles de spectres continus sont incandescentes. Dans le cas théorique du corps noir comme dans les cas réels, l'émission donne des photons d'autant plus énergétiques que la température du corps noir augmente. Ainsi le domaine de l'infrarouge, relativement peu énergétique, est couvert pour des températures de l'ordre de 2 000°K. alors qu'il faut atteindre des températures nettement plus élevées pour obtenir un spectre visible et a fortiori ultraviolet.

Un spectre continu peut aussi être obtenu par décharge électrique dans des gaz à pression relativement élevée, c'est le cas des lampes à hydrogène, à deutérium, ou à arc au xénon.

Sources discontinues

Pour obtenir un spectre discontinu il est possible de réaliser une décharge électrique dans un gaz contenant des atomes libres, tel qu'une vapeur métallique ou un gaz rare, sous pression réduite.

Les atomes libres peuvent également être excités par un phénomène thermique (flamme) ou électrique (arc ou étincelle).

Lasers

Le laser* est une source de radiation monochromatique particulièrement intéressante lorsqu'il s'agit de fournir une énergie importante. En effet la lumière émise est cohérente et de ce fait, un faisceau de lumière parallèle a

* Light Amplification Stimulated Emission Radiation.

très peu tendance à diverger lors de sa propagation. Ceci permet de concentrer une grande énergie sur une petite cible, même à distance considérable.

L'importance analytique des lasers provient, outre ce fait, du caractère hautement monochromatique de la lumière émise. Le laser est notamment utilisé comme source d'excitation en spectroscopie Raman, en fluorescence et en spectrométrie de masse.

TRANSFORMÉE DE FOURIER

Une fonction, relative par exemple au temps, $f(t)$ peut être transformée mathématiquement en une fonction de la fréquence $F(\nu)$, c'est-à-dire en un spectre.

Cette fonction $F(\nu)$ est appelée transformée de Fourier de $f(t)$.

La possibilité d'obtenir des transformées de Fourier n'est pas exclusive d'une fonction du temps. Elle est également applicable à d'autres variables.

Dans le cas de la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire si, au lieu de soumettre l'échantillon à un champ sinusoïdal H_1 de fréquence ν_0 pendant un temps important, on le soumet à ce champ pendant de courts moments (impulsions), on enregistre à chaque fois un champ magnétique, induit par la résonance, selon l'axe des x , qui, lorsque le champ H_1 est supprimé, décroît en fonction du temps, selon une courbe périodique.

La transformée de Fourier permet d'accéder au spectre $F(\nu)$ et comme les impulsions sont très brèves, il est possible de faire la somme d'un grand nombre d'enregistrements.

Ceci conduit à une amélioration importante de la sensibilité.

Dans le domaine de l'infrarouge, si l'on enregistre un interférogramme (à deux ondes) celui-ci dépend de la différence de marche Δ entre les 2 ondes, qui est variable pour chaque longueur d'onde (ou fréquence).

On peut donc ici obtenir $F(\nu)$ en fonction de $f(\Delta)$.

C'est également par cette méthode que l'on obtient le « lissage » des courbes.

AUTRES MÉTHODES OPTIQUES

A côté des techniques spectrales qui font intervenir des phénomènes au niveau atomique ou moléculaire, d'autres méthodes sont utilisables en chimie analytique. C'est par exemple la réfraction qui permet d'étudier le rapport entre les vitesses de la radiation d'une fréquence donnée dans le vide et dans le milieu considéré, ou indice de réfraction.

Dans un autre domaine, la polarisation et l'activité optique sont à la base de la polarimétrie et d'études structurales grâce à la dispersion rotatoire et au dichroïsme circulaire.

CHAPITRE II

ÉTUDE DES SPECTRES ATOMIQUES (spectres de raies)

Ces spectres font intervenir la variation de l'énergie des électrons d'un atome et, essentiellement de ceux qui se trouvent sur la couche la plus externe (électrons de valence). Toutefois, peuvent également exister des transitions qui intéressent les électrons des couches profondes et qui conduisent à une spectroscopie de rayons X. Seul est envisagé dans cet ouvrage, le domaine des spectres visibles et ultraviolets.

ÉTUDE THÉORIQUE

Cette étude a pour but essentiel de rappeler et de préciser un certain nombre de notions, qui ont été, au moins en partie, vues dans les cours de chimie générale et de physique.

Règles de sélection pour les transitions électroniques

A l'état normal, un atome possède un ou plusieurs électrons qui se trouvent à un niveau d'énergie E_0 , dit niveau fondamental.

Les niveaux d'énergie ont été classés selon les orbites électroniques : K, L, M, N..., en couches numérotées 1, 2, 3, 4... et, de plus, à l'intérieur de chacune des couches, en sous-couches dénommées *s*, *p*, *d* et *f*.

Ainsi, un niveau donné est défini par le numéro de la couche puis par la lettre indiquant la sous-couche. Par exemple, le niveau fondamental de l'électron de valence de l'atome de sodium est 3 *s*.

Lors de l'absorption d'un photon, l'atome passe à un état excité et, comme cet état est instable, retombe au niveau fondamental en réémettant un ou plusieurs photons selon les cas.

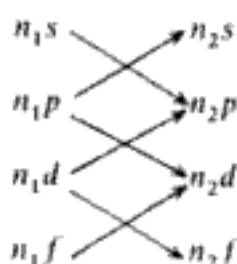
Le quantum d'énergie ainsi absorbé ou émis, correspond à la différence d'énergie des deux niveaux intéressés. Dans le cas de la raie D du sodium, la transition correspond au niveau fondamental 3 *s* et au niveau excité 3 *p*.

Mais toutes les transitions théoriquement possibles en fonction des diffé-

rentes couches et sous-couches électroniques ne donnent pas lieu à l'observation de raies dans le spectre d'un élément.

Ce fait conduit à proposer des règles de sélection expérimentales, qui indiquent que seules sont permises les transitions correspondant au tableau II.

Tableau II.



Le sens des flèches indique la transition correspondant à l'absorption d'un quantum d'énergie.

Dans le cas des transitions $s \rightarrow p$, $p \rightarrow d$, $d \rightarrow f$, le chiffre n_2 peut être égal ou supérieur à n_1 ; dans le cas inverse : $p \rightarrow s$, $d \rightarrow p$, $f \rightarrow d$, n_2 est obligatoirement supérieur à n_1 . Les autres transitions envisageables, qui ne correspondent pas à des raies du spectre, sont pour cette raison, considérées comme *interdites*.

Multiplicité des raies

Dans le cas des sous-couches p , d et f il existe non pas un seul, mais n niveaux énergétiques, différents, bien que généralement proches. Le nombre n correspond au numéro de la colonne de la classification périodique, augmenté d'une unité. L'existence de ce nombre plus élevé de niveaux provoque la multiplicité des raies. Ainsi dans le cas du sodium ou du potassium qui appartiennent à la colonne 1 de la classification périodique, ce fait se traduit par un dédoublement des raies. Le phénomène a été mis en évidence initialement dans le cas de la raie D du sodium.

Cette multiplication des niveaux énergétiques, provient de caractéristiques de spin différentes pour chacun des électrons de valence.

Raies de résonance

Parmi les transitions électroniques susceptibles de se produire, il en est une qui correspond au passage de l'électron de son niveau fondamental au niveau immédiatement supérieur, puis au retour de ce niveau instable vers le niveau fondamental. Dans le cas du sodium, elle correspond à la classique raie D qui provient de l'émission ou de l'absorption de photons dont la longueur d'onde est de 589 nm (ou 589,59 nm). La transition mise en œuvre se produit entre le niveau fondamental $3s$ et l'un des deux niveaux excités immédiatement supérieurs $3p$.

Ce sont les radiations correspondant à ce type de transition qui permettent d'obtenir le phénomène de *résonance lumineuse*. Elle consiste à envoyer dans un ballon contenant sous faible pression une vapeur atomique de l'élément (par exemple le sodium), la lumière monochromatique correspondant à la transition décrite ci-dessus (par exemple la raie D). Le ballon s'illumine alors en émettant exclusivement une lumière de fréquence identique, C'est en raison de ce phénomène que la radiation qui le provoque est nommée *radiation de résonance*.

La raie de résonance est généralement la plus intense du spectre d'un atome faiblement excité car elle correspond à la transition la plus facile puisque la moins énergétique. C'est la raison pour laquelle, elle est utilisée préférentiellement dans un but quantitatif, notamment en photométrie de flamme ou en spectrométrie par absorption atomique.

Si au contraire, l'atome reçoit un quantum d'énergie qu'il est susceptible d'absorber mais qui est plus grand que celui qui produirait la résonance, il est porté à un niveau énergétique supérieur, par exemple, dans le cas de l'atome de sodium initialement à l'état fondamental, de $3s$ à $4p$ ou $5p$. Dans ce cas, l'électron ne va pas nécessairement retourner à son niveau fondamental par un processus unique. Mais il pourra passer par des états intermédiaires, comme le montre la figure 2.

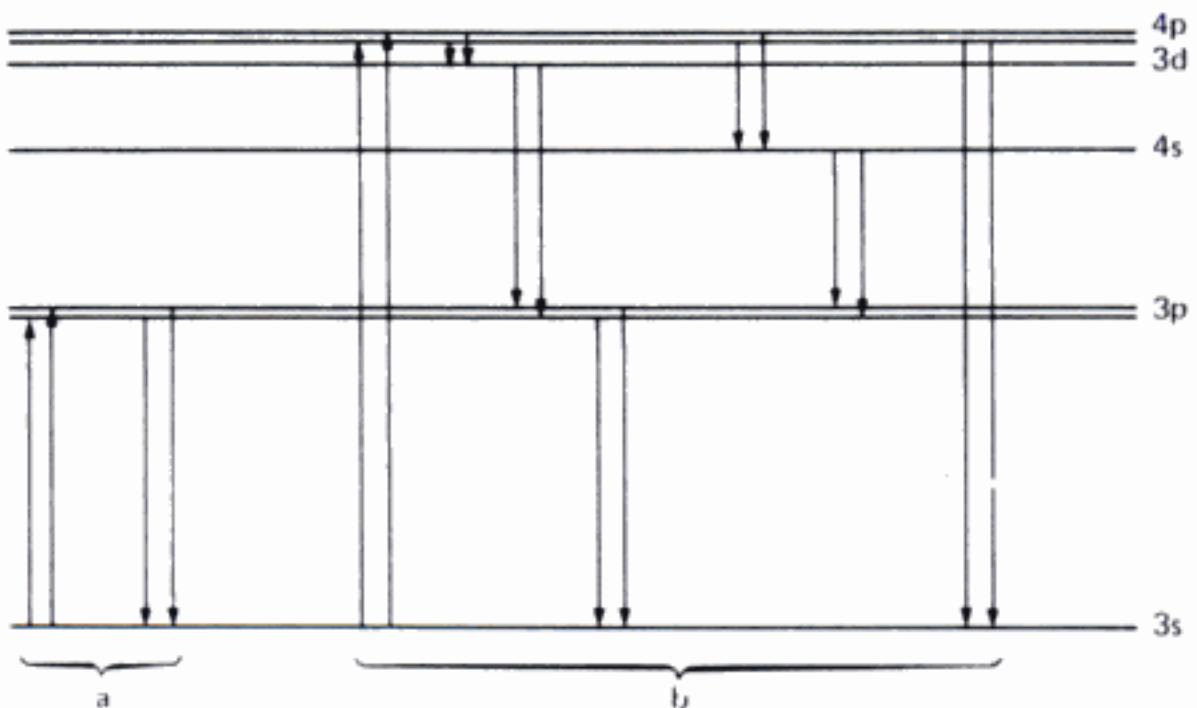


FIG. 2. — Représentation schématique des raies émises après absorption par un atome de sodium d'un photon $h\nu$.

a) Dans les cas des raies de résonance,

b) Dans un autre cas,

(Bien que le niveau $3d$ soit théoriquement dédoublé, il a été représenté par un niveau unique, la différence entre les 2 niveaux étant infime.)

Une radiation émise dans ces conditions n'est donc pas obligatoirement celle qui a été absorbée. Il n'y a donc pas résonance mais production de raies plus ou moins nombreuses. Ainsi, si l'on fournit à l'atome une énergie

importante, par exemple à l'aide d'un arc électrique, de nombreux électrons de valence, dans chaque élément, peuvent être excités et portés à des niveaux énergétiques variés. Il en résulte que le rayonnement peut contenir un grand nombre (parfois jusqu'à plusieurs milliers) de raies de longueurs d'onde précises et reproductibles, surtout dans le domaine du spectre visible et ultraviolet. Cette observation est à l'origine de l'analyse qualitative et quantitative par spectroscopie d'émission.

Ionisation

Lorsqu'un électron reçoit une énergie suffisamment importante, il peut non seulement passer d'un niveau moins énergétique à un niveau plus excité, mais s'éloigner du noyau à une distance telle, qu'il se libère de son attraction : c'est l'ionisation.

A leur tour, les électrons externes de l'ion ainsi formé peuvent être excités, mais il est évident que la structure électronique de l'ion est différente de celle de l'atome neutre; ainsi, l'ion He^+ issu de l'hélium, qui ne possède plus qu'un électron périphérique, ressemble plus à l'hydrogène qu'à l'atome dont il est issu. Pour cette raison il est nommé « hydrogénoïde ». Le spectre de cet ion se rapproche de celui de l'hydrogène, mais n'est plus comparable à celui de l'hélium. D'une manière générale, on peut dire que le spectre d'ion porteur d'une seule charge positive, ressemble à celui de l'atome neutre correspondant à la colonne de la classification périodique, de numéro immédiatement inférieur. Ainsi par exemple le spectre de l'ion Ca^+ ressemble à celui de l'atome de potassium. Cette ressemblance ne se situe évidemment pas au niveau de la valeur des longueurs d'onde, mais correspond à des aspects voisins notamment au niveau de la multiplicité.

Ceci explique que l'étude du spectre d'étincelle d'un élément, dans lequel l'énergie fournie par une étincelle électrique est très importante, montre de très nombreuses raies, mais dont une grande proportion est différente des raies observées sur un spectre d'arc électrique. En effet, dans ce dernier cas, l'énergie est seulement suffisante pour exciter les atomes alors que, dans le rayonnement émis par l'étincelle électrique, on observe le spectre des ions formés, alors que celui de l'atome neutre tend à disparaître. Il en est fréquemment de même avec le spectre d'émission obtenu par plasma.

REMARQUES

a) L'ionisation par absorption d'énergie dont il est question ici, est différente dans son principe et dans ces résultats, de la formation des ions conventionnels, tels qu'ils peuvent exister en solution ou dans un cristal ionique. Notamment la règle de l'octet n'est pas obligatoirement suivie. C'est pourquoi, des ions « non classiques » comme He^+ ou Ca^+ ont été cités précédemment.

b) L'ionisation peut ne pas s'arrêter à des ions porteurs d'une seule charge et il est possible en fournissant suffisamment d'énergie de dépouiller peu à peu un atome de ses électrons. A chaque ion correspond un spectre différent.

Potentiel d'excitation — Potentiel d'ionisation

Pour rendre compte quantitativement de l'énergie nécessaire pour exciter puis pour ioniser un atome, on peut faire appel à la notion de potentiels d'excitation et d'ionisation.

Lorsqu'une certaine énergie E_o est fournie à un atome, par exemple à la suite d'un choc avec un autre atome ou un électron elle est utilisée d'une part pour exciter ou ioniser l'atome et d'autre part pour communiquer une certaine énergie cinétique E_c à l'atome (et à l'électron dans le cas de l'ionisation). On peut écrire :

$$E_o = h\nu + E_c$$

$$\text{ou } E_o = eV + E_c$$

où e est la charge de l'électron et V le potentiel d'excitation ou d'ionisation de l'atome.

Ces potentiels peuvent être mesurés par la méthode de Franck et Hertz qui est fondée sur le principe suivant.

Si un électron de faible énergie cinétique entre en collision avec un atome, cet électron rebondit sensiblement sans perdre son énergie cinétique; le choc est pratiquement élastique. Mais si l'énergie cinétique de l'électron est augmentée en le soumettant à une différence de potentiel de plus en plus importante, il arrive un moment où l'électron peut céder une partie de son énergie, à l'atome qu'il a heurté; le choc n'est plus élastique, et dans cette collision, l'un des électrons de l'atome peut être amené à un état excité ou même être arraché.

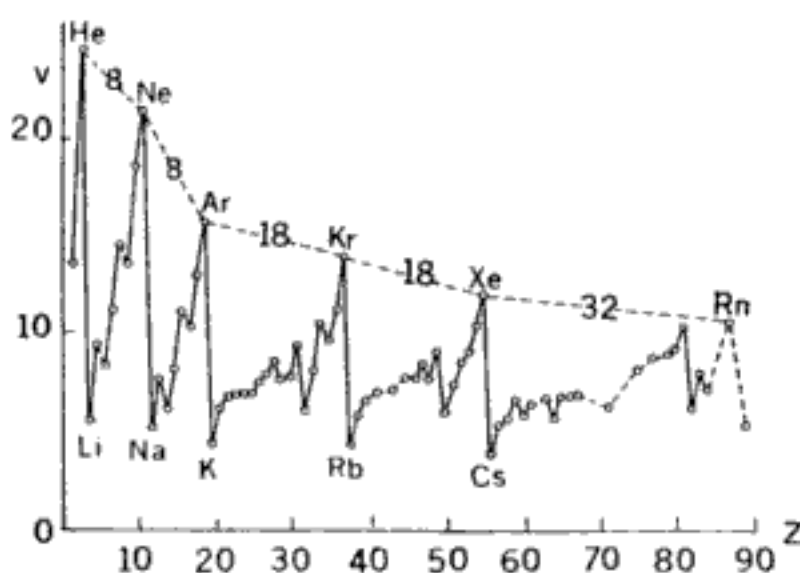


FIG. 3. — Potentiels d'ionisation des différents éléments.

L'électron auteur du choc a cédé une partie de son énergie et ne conserve donc comme énergie cinétique que la différence entre la valeur initiale et l'énergie cédée :

$$E_c = E_o - eV$$

Il suffit donc de tracer la courbe de l'énergie cinétique des électrons (ou d'un paramètre qui lui est lié) en fonction du potentiel appliqué. Sur cette courbe on observe les valeurs du potentiel pour lesquelles l'énergie cinétique chute (par suite de la cession d'énergie aux atomes). Ces valeurs correspondent aux potentiels d'excitation puis aux potentiels d'ionisation de l'atome considéré. Les énergies d'excitation et d'ionisation sont en relation étroite avec les propriétés chimiques des éléments. Ainsi les potentiels des métaux alcalins sont les plus faibles, alors que ceux des gaz rares sont les plus élevés (fig. 3).

Proportion d'atomes excités : loi de Boltzmann

Les états excités présentent un niveau énergétique supérieur à l'état fondamental. Or tout système tend à évoluer vers un état de moindre énergie. Il en résulte que les états excités sont instables et que la probabilité pour un atome de se trouver à l'état excité est plus petite que celle d'exister à l'état fondamental. De plus la probabilité diminue au fur et à mesure que l'état énergétique est plus élevé.

Cette règle est traduite quantitativement par la loi de Boltzmann qui, en première approximation, s'exprime par l'équation :

$$N = N_0 e^{-\frac{E_n - E_0}{kT}}$$

où

N est le nombre d'atomes à l'état excité d'énergie E_n ,

N_0 le nombre d'atomes à l'état fondamental,

E_n l'énergie du niveau excité,

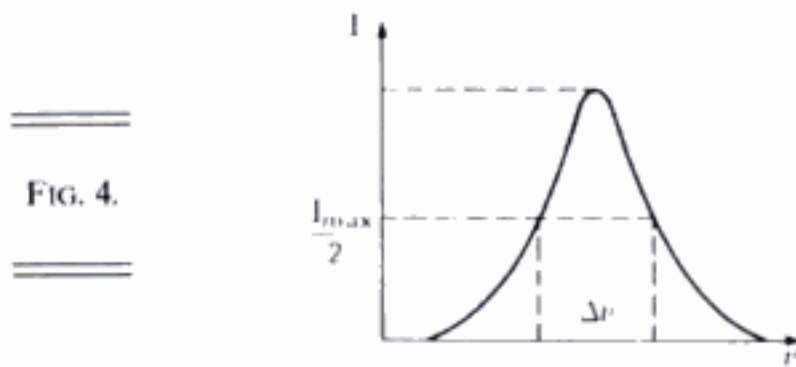
E_0 l'énergie du niveau fondamental,

T la température absolue et k une constante.

D'un point de vue pratique, la proportion N/N_0 dépend évidemment du potentiel d'excitation de l'atome considéré. Dans les meilleurs cas elle est de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-6} pour les atomes excités.

Largeur des raies

Comme cela a été vu précédemment, les raies correspondent à une fréquence (ou à une longueur d'onde) déterminée avec précision par le quantum $h\nu$ absorbé ou émis. Elles devraient donc être infiniment fines, en réalité l'observateur constate que ces raies sont visibles et donc qu'elles ont une certaine largeur. Mais si l'on mesure l'intensité lumineuse émise (ou absorbée) pour chaque valeur de la fréquence, on constate que cette intensité varie en fonction de la fréquence comme l'indique la figure 4.



Une telle courbe est appelée profil de raie. Le maximum correspond à la fréquence théorique et l'épaisseur de la raie $\Delta\nu$ est mesurée à mi-hauteur de la courbe : cet élargissement est essentiellement dû à deux influences : celle de la vitesse de l'atome qui émet ou absorbe et celle du champ électrique où se trouve l'atome.

• **Origine de l'élargissement des raies.** — L'effet Doppler-Fizeau correspond à l'influence de la vitesse de l'atome. Il est observable pour tous les phénomènes vibratoires aussi bien en astronomie (mesure des vitesses relatives des corps célestes) que dans le domaine sonore ou ultrasonore (radar).

La variation exprimée en longueur d'onde est

$$\Delta\lambda = \lambda \frac{v}{c} \cos \theta$$

où v est la vitesse de la particule

c la vitesse de la lumière dans le vide

θ l'angle que fait la trajectoire de l'atome avec la direction de l'observation.

Les valeurs de la vitesse v et de l'angle θ sont différentes pour chaque atome et se répartissent statistiquement. Ceci explique l'aspect gaussien de la courbe traduisant l'intensité lumineuse en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence.

L'effet Lorentz correspond à l'influence de la pression. Au fur et à mesure que la pression s'élève, les collisions se multiplient, provoquant par là même des variations de vitesse.

L'effet Stark est observé dans le cas où la source lumineuse est soumise à un champ électrique, comme par exemple dans un arc électrique ou un tube de Geissler.

On observe alors la décomposition de la raie spectrale en plusieurs raies réparties symétriquement autour de la fréquence théorique. Ces raies étant nombreuses, il en résulte là encore un élargissement du profil de raie.

• **Conséquences de l'élargissement des raies sur la validité de la loi de Beer-Lambert** — **Variation du coefficient d'extinction.** — Si une lumière correspondant à une raie d'émission d'un élément, est envoyée dans une vapeur

atomique contenant notamment des atomes de cet élément à l'état fondamental, ces derniers absorbent cette lumière. Mais cette absorption est d'autant plus importante que la fréquence de la radiation est plus proche de sa valeur théorique. Il en résulte que la loi de Beer-Lambert ne sera applicable que pour des valeurs suffisamment proches de cette fréquence idéale. En effet, le coefficient d'extinction E n'est constant que pour une raie très fine et varie en réalité, pour une raie présentant une largeur donnée, selon une courbe gaussienne tout à fait analogue à la précédente. Il est donc nécessaire pour pouvoir appliquer d'une façon relativement précise la loi de Beer-Lambert de partir d'une raie d'émission aussi étroite que possible. La figure 5 montre ainsi que si l'on veut assimiler le coefficient d'extinction E à une constante dans un intervalle $\delta\nu$ (courbe *a*) il faut que l'épaisseur de la raie d'émission (qui sera donc absorbée par les atomes que l'on veut doser) soit au plus de $\delta\nu$ (courbe *b*). Il en résulte que les conditions de température, de pression et de champ électrique existant dans la source de radiations doivent être compatibles avec cette finesse. Il ne faut donc pas dépasser une certaine énergie d'activation, sous peine de voir les résultats des mesures faussés.

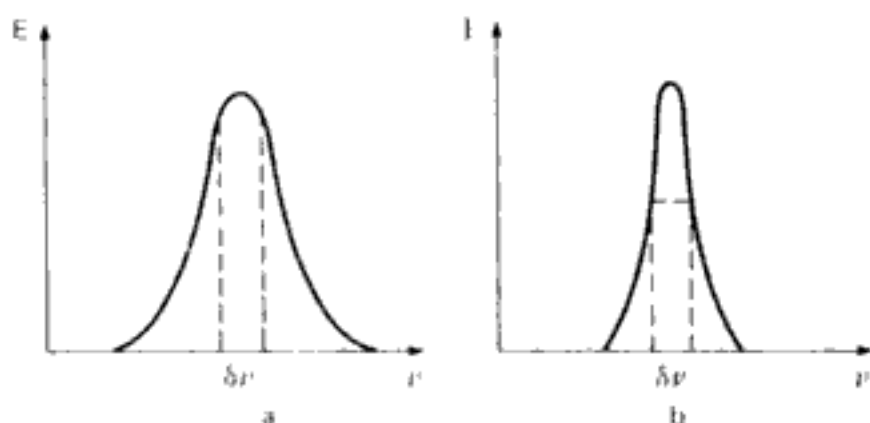


FIG. 5.

Autoabsorption. — Lorsque la concentration en atomes augmente dans la vapeur, ceux d'entre eux qui sont à l'état fondamental, et donc beaucoup plus nombreux que les atomes excités qui émettent des photons, sont susceptibles d'absorber ces quantums d'énergie, au niveau même de leur émission et donc sans qu'ils puissent être détectés, dans le cas de la photométrie de flamme, ou être utilisés, pour l'absorption atomique.

Cette absorption *in situ* au niveau de la source de radiation est, ici encore, d'autant plus intense que la fréquence est plus proche de la fréquence théorique.

En effet, c'est pour cette valeur qu'il y a à la fois le maximum d'émission, donc le plus de photons, et la plus grande probabilité d'absorption. Une diminution de l'émission est ainsi observée pour cette longueur d'onde (ou fréquence) théorique (fig. 6). Il peut même arriver que cette absorption de la longueur d'onde du maximum soit totale et que ne persiste de la raie qu'une faible intensité de part et d'autre de la position théorique du maximum. C'est le phénomène de *renversement des raies*.

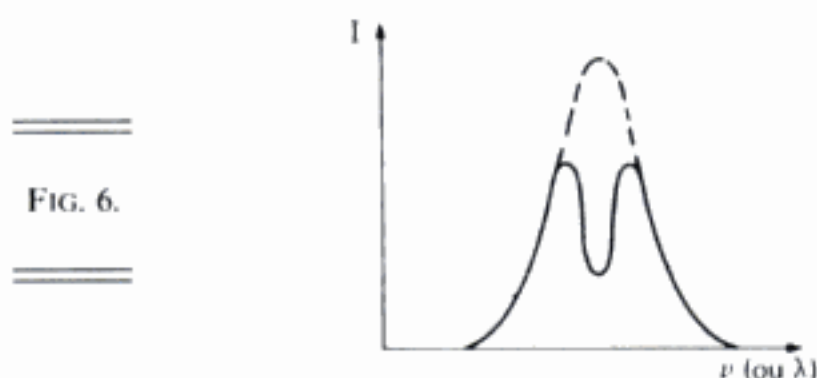


FIG. 6.

Or seules les fréquences correspondant à des longueurs d'ondes proches du maximum sont susceptibles de permettre une détermination quantitative, puisque le coefficient d'extinction n'est sensiblement constant que pour ces valeurs. Ce phénomène d'autoabsorption est donc particulièrement gênant pour des déterminations quantitatives.

APPLICATIONS ANALYTIQUES DES SPECTRES ATOMIQUES

● **Généralités.** — Les spectres de raies font intervenir des transitions intéressant des atomes libres et non pas des molécules. Or les atomes n'existent pas à l'état libre, dans les conditions normales de température, sauf s'il s'agit de gaz rares. Ils ont tendance à s'associer pour donner :

- par des liaisons covalentes des molécules
- par des liaisons électrovalentes des composés ioniques.

Il faut donc fournir à ces composés une énergie relativement importante pour rompre ces liaisons et permettre l'obtention d'atomes indépendants. Ceux-ci doivent en outre rester isolés les uns des autres, pour ne pas réagir entre eux. Cette dernière exigence nécessite le seul état de la matière qui permette un libre parcours moyen suffisant : l'état gazeux. Les éléments à étudier se trouvent donc toujours à l'état de *vapeur atomique*. Pour obtenir cette vapeur l'énergie nécessaire est apportée par une élévation de température produite par une flamme, un système électrothermique (four), un arc ou une étincelle électrique, un plasma.

Dans ces conditions seuls persistent à côté des atomes, quelques radicaux (OH^* , CN^*) et de rares molécules (H_2O , CO_2).

● **Domaine d'application.** — Pratiquement tous les éléments peuvent être étudiés à l'état d'atomes ou à l'état d'ions, si une énergie suffisante leur est fournie. Cependant les méthodes analytiques fondées sur l'utilisation des spectres atomiques sont, le plus souvent, appliquées aux métaux et à quelques métalloïdes comme l'arsenic ou le sélénium.

Le spectre peut être obtenu :

— *soit par émission*, en fournissant à l'atome à l'état de vapeur ou à l'ion formé à partir de cet atome, une énergie supplémentaire pour l'amener à un état excité, qui lui permettra ensuite d'émettre des radiations de fréquences données;

— *soit par absorption*, en maintenant les atomes à l'état fondamental et en leur fournissant sous forme de lumière des photons doués d'une énergie telle, qu'elle corresponde à une ou plusieurs radiations absorbables. Dans l'un et l'autre cas, on peut atteindre un certain nombre de résultats utilisables en chimie analytique. Tout d'abord, la fréquence (ou la longueur d'onde) d'une raie est très généralement caractéristique d'un élément donné. Cette observation conduit à une possibilité nouvelle d'analyse qualitative. Mais les spectres de raies ont également des applications dans le domaine quantitatif en utilisant la loi de Beer-Lambert.

Tant pour l'identification que pour le dosage, l'analyste a la possibilité d'opérer en émission ou en absorption. Le choix de l'une de ces deux méthodes dépend surtout de raisons pratiques (réalisation d'appareils susceptibles de donner le plus commodément le spectre désiré). En effet selon le but recherché, le type de spectre souhaité est différent :

— quand on opère une recherche qualitative, on ne peut pas se borner à déterminer une seule raie pour caractériser un élément, sauf dans des cas simples comme les métaux alcalins. Il est donc intéressant d'obtenir un spectre riche en raies, donc réalisé avec une source très énergétique : arc ou étincelle électrique. Pour éviter les erreurs ou les difficultés d'attribution, il est souhaitable de mesurer les longueurs d'onde de 3 raies. Le spectre peut être observé visuellement (spectroscopie) photographié (spectrographie) ou enregistré quantitativement (spectrométrie);

— si l'on recherche un but quantitatif, il faut faire en sorte que le plus grand nombre possible d'atomes soit le siège de la même transition, afin que les échanges d'énergie affectent la même raie, dont l'intensité est ainsi maximale. Dans ce but, il est souhaitable de ne produire que peu de raies, donc de réaliser soit une excitation relativement faible, (par exemple par une flamme) pour privilégier l'émission d'une raie donnée, le plus souvent la raie de résonance, soit au contraire une excitation très intense (plasma). Dans le cas de la spectrométrie d'absorption, il est en outre très important d'utiliser une raie de forte intensité, donc portant beaucoup de photons, pour augmenter la probabilité de rencontre entre un photon et un atome. C'est pourquoi ici encore, on sélectionne très généralement la raie de résonance.

● **Intérêt.** — L'intérêt de ces diverses méthodes utilisant les spectres de raies porte sur deux points principaux.

1) *La spécificité* tout d'abord puisque il n'y a pratiquement pas d'exemple de raies de fréquence exactement identique, émises par deux éléments différents. Cette qualité évite d'avoir à réaliser une séparation préalable de l'élément à doser, ce qui est important aussi bien pour les méthodes quantitatives que

pour les identifications. Cependant dans le cas de différences très importantes entre les concentrations de deux éléments dont les raies sont voisines, et compte tenu de l'élargissement des raies (v. p. 19) il est possible d'observer certaines interférences spectrales qui peuvent gêner le dosage de l'élément dont la teneur est la plus faible.

2) En outre, la nécessité d'élever la température pour former une vapeur atomique, entraîne évidemment la destruction d'une matière organique éventuellement présente, soit associée avec l'élément (dérivés organométalliques) soit libre (milieux biologiques). Il ne faut pas toutefois, négliger le risque de formation de bandes spectrales par suite de la présence de radicaux ou de molécules. Ces bandes peuvent parfois gêner l'observation de raies qu'elles recouvrent ou qu'elles jouxtent, d'où l'intérêt de mesurer la longueur d'onde de plusieurs raies pour identifier un élément.

3) Une autre qualité des méthodes spectrales est leur *sensibilité* qui est relativement élevée : selon les éléments, il est possible de détecter et de doser des concentrations de $5 \cdot 10^{-2} \text{ g.l}^{-1}$ à $5 \cdot 10^{-6} \text{ g.l}^{-1}$ soit de 50 à 0,005 ppm. Ceci explique qu'une technique comme la spectrophotométrie par absorption atomique concurrence de plus en plus les méthodes chimiques, notamment pour les dosages dans des milieux contenant un grand nombre de substances, comme les médicaments ou les produits biologiques.

Production de la vapeur atomique et excitation des atomes

Deux cas différents peuvent se présenter, lorsqu'il s'agit de former une vapeur atomique, puis, éventuellement d'exciter les atomes ainsi formés.

Le premier et le plus simple consiste à partir du métal (ou du métalloïde) lui-même, à le placer dans une enceinte à l'abri de toute substance pouvant l'altérer, et à fournir l'énergie nécessaire aux changements d'état (fusion et volatilisation), puis à l'excitation des atomes ainsi obtenus à l'état de vapeur. C'est ce qui se produit lorsque l'on désire réaliser une source de radiation monochromatique.

Mais le deuxième cas possible est celui où l'on part d'un composé minéral ou organique solide, ou plus généralement d'une solution contenant ce composé et que l'on cherche à transformer les ions existant dans ce milieu initial, en vapeur d'atomes neutres; ceux-ci peuvent absorber des photons ou sont éventuellement ensuite excités en vue de mesurer l'intensité de la lumière qu'ils émettent en retournant à l'état fondamental.

L'énergie fournie dans ce but peut être thermique (flamme, fours) ou électrique (arc, étincelle).

● ***Phénomènes se produisant lors de la formation de la vapeur atomique.*** — L'échantillon analysé est parfois un solide ou plus souvent une solution de ce solide dans un solvant approprié.

Le plus généralement, le liquide contient en solution des ions : cations et

anions. Mais l'élément à doser peut également exister sous forme de complexes chargés ou non (v. Tome II p. 49), ou même à l'état de dérivés organométalliques.

Dans le cas le plus fréquent d'une solution ionique, qui est envisagé ici pour faciliter l'exposé, les ions seront supposés monovalents et symbolisés par A^- et M^+ . C'est le plus souvent le cation qui donne, après transformation, la vapeur atomique.

Évaporation du solvant. — L'énergie fournie au système a tout d'abord pour but d'éliminer le solvant. La vitesse de cette opération dépend évidemment de la quantité de solvant à évaporer, mais aussi de sa nature. Ainsi l'évaporation de l'eau est un phénomène endothermique, tandis que la combustion de solvants organiques est exothermique.

Fusion. — Les particules obtenues subissent, grâce à un nouvel apport d'énergie, le phénomène de fusion. Dans le cas de complexes organiques ou de dérivés organométalliques, cette étape correspond aussi à la combustion de la substance et l'on retrouve donc à la fin de cette phase des composés ioniques : sels ou oxydes. Évidemment la rapidité du changement d'état est fonction, non seulement du volume des particules qui la subissent, mais également de la nature des sels ou oxydes formés. Il est connu en effet, que par exemple, les halogénures alcalins fondent dès une température de 500 °C à 800 °C, tandis que les sulfates ou les phosphates sont beaucoup plus réfractaires.

Vaporisation. — Les sels ou oxydes fondus, qui se trouvent encore à l'état ionique, peuvent par apport d'énergie passer à l'état de vapeur. Ici encore, la taille des particules et la nature des sels formés jouent un rôle important. On obtient finalement les associations d'ions les plus simples possibles à l'état de vapeur, par exemple M^+A^- , qui peuvent être comparées à des molécules.

Dissociation en atomes neutres. — Ces associations pseudomoléculaires simples peuvent encore recevoir de l'énergie et passer à l'état d'atomes ou de radicaux.



Il faut remarquer que contrairement à ce qui se passe en solution, la dissociation ne correspond pas à la formation d'ions mais d'atomes neutres. Il est donc nécessaire de fournir une énergie importante. A titre d'exemple, la vapeur de chlorure de sodium se dissocie ainsi en atomes de chlore et de sodium indépendants.

La vitesse de cette réaction est fonction de la température, mais il existe une constante d'équilibre à une température donnée, qui correspond à l'expression de la loi d'action de masse relative aux gaz :

$$\frac{p_M \times p_A}{p_{MA}} = K \quad (1)$$

où p_M , p_A et p_{MA} sont les pressions partielles correspondant aux atomes (ou radicaux) et aux « molécules ».

La valeur de la constante dépend de la température et de la nature du sel.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE. — D'une manière générale, si la température s'élève, la constante augmente. Il y a donc, de ce point de vue, intérêt à opérer à une température la plus élevée possible.

INFLUENCE DE LA NATURE DU CATION. — Il existe des éléments qui donnent des sels ou des oxydes réfractaires comme par exemple l'aluminium, le titane, le vanadium, le silicium; en revanche les ions alcalins sont facilement transformés en atomes. Les constantes ont donc des valeurs très différentes pour les uns et les autres à une température donnée.

INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ANION. — Pour un élément métallique donné, la nature de l'anion joue en général peu, sauf dans le cas de composés particulièrement peu dissociables. Ce caractère est très habituellement lié à la faible solubilité dans l'eau. En effet, il y a dans ce cas, association en chaîne de nombreux anions et cations au moins bivalents.

On peut citer ainsi parmi les sels peu dissociables les sulfates alcalinoterreux et de nombreux phosphates, silicates, etc... Mais il n'est pas nécessaire que le composé soit initialement insoluble dans une solution aqueuse. Ainsi la présence des phosphates dans une solution contenant des ions alcalinoterreux, même si les sels formés sont solubles en milieu acide, gêne la dissociation au niveau de la vapeur atomique.

EFFET DE SEL — REcul DE DISSOCIATION. — Si dans la solution initiale contenant le sel MA, existent d'autres sels du même anion, ces différents sels subissent les mêmes changements d'état et sont donc dissociés en donnant l'atome ou le radical A_0 . La pression partielle p_A s'élève donc. Pour respecter la loi d'action de masse, il est donc nécessaire que la pression partielle due aux atomes du métal p_M diminue et que celle des « molécules » p_{MA} augmente. La dissociation et donc le nombre d'atomes métalliques vont ainsi diminuer.

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DE LA VAPEUR ATOMIQUE (ET DONC DE LA SOLUTION INITIALE EN SEL A DOSER). — La concentration en sel MA intervient de la manière suivante : soit α le rapport entre le nombre de « molécules » dissociées en atomes et le nombre total N de « molécules » (dissociées ou non) dans un certain volume V de vapeur. α est le degré de dissociation et sa valeur est telle que

$$0 \leq \alpha \leq 1 \quad (2)$$

Le nombre de molécules dissociées est donc $N\alpha$. Il y a donc dans le volume considéré $N\alpha$ atomes de métal M_0 et $N\alpha$ atomes (ou radicaux) A_0 .

Le nombre de molécules non dissociées est

$$N(1 - \alpha)$$

Dans la formule (1) exprimant la loi d'action de masse, il est possible d'exprimer les pressions partielles en fractions moléculaires de la pression totale P.

Si pour simplifier, on considère que tous les atomes (ou radicaux) A proviennent de la dissociation du sel MA, il est possible d'écrire :

$$p_M = p_A = \frac{N\alpha}{N} \times P = \alpha P$$

$$p_{MA} = \frac{N(1 - \alpha)}{N} \times P = (1 - \alpha)P$$

La formule (1) devient alors

$$K = \frac{\alpha P \times \alpha P}{(1 - \alpha)P} = \frac{\alpha^2 P}{1 - \alpha} \quad (3)$$

ou

$$\frac{K}{P} = \frac{\alpha^2}{1 - \alpha} \quad (4)$$

Or si l'on assimile la vapeur atomique à un gaz parfait :

$$PV = NRT \quad \text{donc} \quad P = \frac{NRT}{V}$$

L'équation devient :

$$\frac{KV}{NRT} = \frac{\alpha^2}{1 - \alpha} \quad (5)$$

Il en résulte que, si la concentration augmente, le nombre N augmente, donc le rapport $\frac{KV}{NRT}$ diminue. En effet R est par définition une constante, et T et V sont également constants, puisque l'on a choisi un volume donné, et que la température doit être stable pour permettre d'écrire l'équation (1). Ceci entraîne que la valeur

$$\frac{\alpha^2}{1 - \alpha}$$

diminue. Cette diminution n'est possible que si α lui-même diminue, compte tenu des limites indiquées dans l'équation (2), puisque ainsi le numérateur diminue et le dénominateur augmente.

Ce raisonnement permet donc de comprendre que, plus la concentration en sel augmente, plus le degré de dissociation et donc la proportion d'atomes libres diminuent.

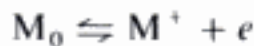
Formation d'oxydes. — Les différents phénomènes qui aboutissent à la formation d'atomes libres nécessitent l'apport d'une certaine énergie qui provoque l'élévation de la température. Or, le plus fréquemment, cette formation de vapeur atomique n'est pas réalisée à l'abri de l'oxygène; bien au contraire, l'énergie peut être fournie par une réaction de combustion mettant en jeu cet élément. Dans le gaz où se forment les atomes libres, existent donc des molécules telles que l'eau, des radicaux OH* et des atomes et molécules d'oxygène, qui sont susceptibles de réagir avec les atomes métalliques pour former les oxydes correspondants.

Or, la constante de dissociation des oxydes a généralement une valeur peu élevée : ils sont donc assez réfractaires; c'est le cas par exemple des oxydes

alcalino-terreux, pour lesquels le pourcentage de dissociation ne dépasse guère 1 % aux températures habituellement atteintes. Il y a donc là encore, une diminution possible de la concentration en atomes libres.

Excitation des atomes. — La proportion d'atomes excités correspond à la loi de Boltzmann. Elle est donc d'autant plus importante que le nombre total d'atomes est grand et que la température est plus élevée.

Ionisation des atomes. — L'apport d'énergie peut être suffisant pour réaliser l'ionisation de certains atomes selon



où e symbolise l'électron.

Il s'agit d'un équilibre et on peut envisager d'écrire la loi d'action de masse en acceptant l'hypothèse d'une « pression partielle d'électrons » p_e .

$$K = \frac{p_{M^+} \times p_e}{p_M}$$

L'ionisation est un phénomène perturbateur puisque le spectre des ions est différent de celui des atomes. Pour pallier cette difficulté, il faut donc diminuer la constante K et augmenter la pression partielle en électrons p_e .

Or ces électrons peuvent provenir non seulement de l'ionisation des atomes de l'élément à doser, mais encore de celle d'autres éléments. Il est donc possible de limiter l'ionisation par addition à la substance à doser, d'un sel d'un métal facilement ionisable comme par exemple les métaux alcalins. Dans ces conditions et avec une concentration suffisante, on établit une forte pression d'électrons de telle sorte que la pression p_{M^+} soit très faible et donc que l'ionisation puisse être considérée comme négligeable; on dit alors que l'on atteint un *plateau d'ionisation*.

● **Vaporisation par la flamme.** — Une flamme est un courant gazeux dans lequel se produit une réaction chimique exothermique. Les atomes ou molécules, constituant le gaz en ignition, circulent avec une certaine vitesse et ne se trouvent donc pas à deux moments donnés dans la même position. Il est donc nécessaire de considérer qu'il s'agit d'un phénomène dynamique et que, par conséquent, l'ensemble des transformations qui aboutissent à la vapeur atomique, doit être réalisé en un temps compatible avec la durée de la réaction de combustion. S'il n'en est pas ainsi, le courant gazeux se refroidit et il n'y a plus de possibilités de fournir une énergie suffisante pour vaporiser et éventuellement exciter les atomes.

Il est donc logique d'envisager l'emploi d'une flamme hautement énergétique pour réaliser cette fin, mais en se souvenant que, pour obtenir le maximum d'atomes subissant la même transition de résonance, l'énergie fournie ne doit pas être trop importante. Il y a donc une limite à ne pas dépasser.

Différents mélanges utilisés. — Les énergies fournies sont évidemment fonction des températures atteintes et celles-ci dépendent des proportions, mais surtout de la nature

du mélange de comburant et de carburant. Le tableau III indique les températures approximatives obtenues avec les mélanges les plus courants.

Tableau III.

<i>Carburant</i>	<i>Comburant</i>	<i>Température</i>
butane	air	1 900 °C
propane	air	1 915 °C
méthane	air	1 950 °C
hydrogène	air	2 100 °C
acétylène	air	2 250 °C
méthane	oxygène	2 750 °C
hydrogène	oxygène	2 850 °C
acétylène	oxygène	3 100 °C
cyanogène	oxygène	4 850 °C
acétylène	protoxyde d'azote	2 950 °C

Différentes zones d'une flamme. — Quelle que soit la forme d'une flamme, conique ou allongée en pinceau (v. p. 41), deux zones distinctes sont faciles à observer. Ces deux parties sont classiquement appelées « cônes » en considérant l'aspect de la flamme du classique brûleur de Bunsen.

LE CÔNE INTERNE, le plus proche du brûleur présente une température relativement basse. La réaction ne s'est pas encore totalement effectuée, et le mélange gazeux n'y est pas en équilibre thermique.

LE CÔNE EXTERNE, qui surmonte le précédent et se trouve ainsi à quelque distance du brûleur, correspond, au moins dans sa partie la plus proche du cône interne, à une zone d'équilibre thermique.

Pour que le dosage soit fiable, c'est donc cette dernière partie qui devra être observée, soit en déterminant l'intensité émise, soit en la faisant traverser par le faisceau de lumière monochromatique dont on mesure l'absorption.

Nébulisation de la solution. — Pour qu'une mesure quantitative puisse être effectuée pendant un temps suffisant, et en raison du caractère transitoire du courant gazeux que constitue la flamme, il faut que l'introduction de l'élément à doser soit réalisée avec un débit homogène au cours du temps. Le moyen le plus habituel consiste, à partir d'une solution, à réaliser un fin brouillard qui ne gêne pas trop la combustion du mélange carburant-comburant. En effet, les différents phénomènes qui ont été vus précédemment sont endothermiques, surtout si l'on part d'une solution aqueuse, et il faut veiller à ne pas arrêter la réaction exothermique de combustion par introduction d'une quantité trop importante de solution aqueuse. La formation de ce brouillard se fait par nébulisation pneumatique ou par ultrasons.

La nébulisation par ultrasons utilise le phénomène de cavitation, à l'intérieur d'un liquide soumis à une vibration sonore suffisamment intense. Elle permet la formation de particules de dimensions plus faibles que la nébulisation pneumatique. Ceci est particulièrement intéressant dans le cas de solutions concentrées ou de solutés réfractaires.

Dans le cas de la nébulisation pneumatique, qui correspond encore à la majorité des appareils, un jet gazeux, qui est soit le carburant, soit le comburant, est animé d'une grande vitesse grâce au rétrécissement de l'orifice d'écoulement. Il arrive tangentiellement sur la surface du liquide à nébuliser. Il arrache ainsi à ce liquide des vésicules qui sont réduites en fines gouttelettes dans la veine gazeuse qui les transporte. Lorsque le liquide arrive au contact du courant gazeux par l'intermédiaire d'un tube mince, la force du courant gazeux entraîne l'aspiration automatique de la solution à partir d'un récipient dans lequel plonge l'autre extrémité du tube. Les deux canalisations, acheminant le gaz et le liquide, peuvent être perpendiculaires (a) ou coaxiales (b) comme le montre la figure 7.

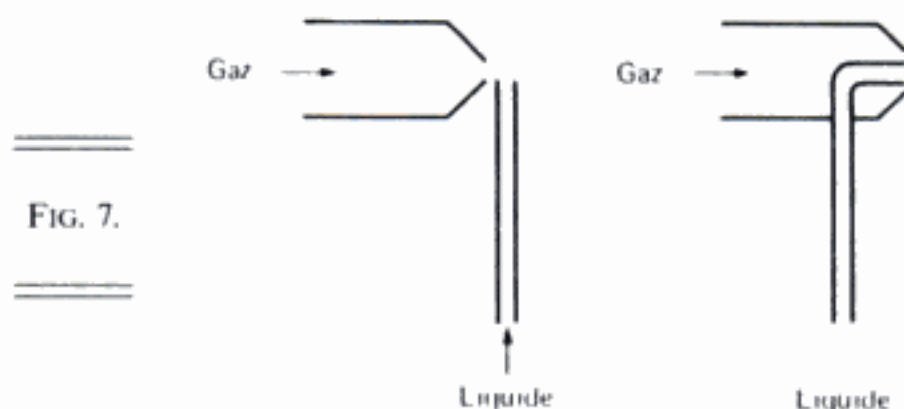


FIG. 7.

Facteurs agissant sur le diamètre des particules du nébulisat. — Le diamètre des gouttelettes du nébulisat, qui a une importance primordiale sur la formation de vapeur atomique dans la flamme, dépend d'un certain nombre de facteurs. Les uns correspondent à des caractéristiques du nébuliseur lui-même, les autres, à la nature du liquide à nébuliser.

FACTEURS DÉPENDANT DU NÉBULISEUR. — Les débits du gaz et du liquide interviennent surtout lorsque le débit du liquide est relativement grand. Lorsque le rapport des débits du liquide et du gaz est inférieur ou égal à 10^{-4} , le diamètre des gouttes devient pratiquement indépendant de ce rapport. Par contre, la vitesse du courant gazeux est importante, et l'on peut sensiblement écrire que le diamètre est inversement proportionnel à la vitesse du gaz.

FACTEURS DÉPENDANT DU LIQUIDE. — La tension superficielle, la viscosité et la densité de la solution ont une influence très grande.

La viscosité notamment, a un rôle considérable lors de l'aspiration du liquide par le tube semi-capillaire. En pratique, il faut prendre garde de ne pas comparer, dans les méthodes de spectrophotométrie de flamme, des liquides dont les propriétés physiques sont très différentes comme par exemple l'eau et les solvants organiques.

Qualités requises d'un nébuliseur. — Pour que le nébulisat soit introduit d'une façon homogène dans la flamme et donc permette l'obtention d'une vapeur atomique de concentration stable, il est nécessaire que soient réalisés :

- un débit constant d'un nébulisat fin et homogène, en éliminant les grosses gouttes; sinon la sensibilité et la reproductibilité diminuent;

- l'absence de « mémoire », c'est-à-dire l'élimination des gouttes d'une solution précédemment pulvérisée, qui pourraient venir contaminer la solution suivante dont la concentration n'est pas forcément identique;

- enfin, il est utile que le temps de réponse soit aussi bref que possible. Il est d'autre part évident que le matériau dans lequel est réalisé le nébuliseur doit résister aux agressions chimiques éventuelles de la solution : on emploie donc des pièces en verre ou en acier inoxydable.

Différents types de nébuliseurs pneumatiques. — Deux systèmes sont utilisés :

LE SYSTÈME À CONSOMMATION TOTALE, où la totalité du nébulisat, y compris les grosses gouttes, arrive dans la flamme, porté par l'un des gaz (comburant ou carburant). L'autre gaz est amené directement dans la flamme. Ce système entraîne la production d'une flamme turbulente. L'inconvénient majeur de ce type de nébuliseur vient d'une stabilité de la flamme et d'une reproductibilité assez médiocres.

LE SYSTÈME À PRÉMÉLANGE dans lequel le gaz, qui assure la pulvérisation, le plus souvent le comburant, est mélangé lorsqu'il contient le nébulisat, avec l'autre gaz dans une chambre munie d'un système de chicanes ou d'hélices, où les plus grosses gouttes sont éliminées par projection sur les parois. L'avantage d'un tel système est que l'on obtient ainsi une flamme laminaire stable. Mais il existe certains inconvénients que l'on peut d'ailleurs pallier par construction.

L'un des risques majeurs tient à la géométrie d'un tel système, qui influe sur le temps de réponse et surtout sur l'absence de mémoire. La construction doit donc en être particulièrement bien étudiée. Un autre inconvénient est le risque d'explosion, puisque, dès avant l'inflammation, le mélange des gaz comburant et carburant est réalisé; mais cette éventualité est très peu probable dans les appareils actuels. Enfin, le débit du gaz comburant qui assure la nébulisation ne peut plus être modifié sans modifier celle-ci. La flamme ne peut donc plus être réglée qu'en agissant sur le débit du carburant. Ceci peut être gênant. Aussi une arrivée supplémentaire de comburant est-elle prévue dans la plupart des appareils utilisant ce système.

Phénomènes perturbateurs et moyens d'y remédier. — Pour réaliser des mesures convenables, il faut que la concentration en atomes de la vapeur soit stable. Dans le cas de l'utilisation de la flamme comme moyen d'obtention de la vapeur atomique, les atomes formés dans le courant gazeux ne restent pas indéfiniment dans la flamme, ils ne font que passer avec un certain débit. Comme la mesure demande un certain laps de temps, il faut que, pendant ce temps, la concentration en atomes de la flamme soit constante, c'est-à-dire que leur débit soit constant. L'importance du système nébuliseur-brûleur est donc considérable, puisqu'il conditionne un débit du gaz constant et une nébulisation constante en quantité et en diamètre des gouttelettes. Mais la stabilité de la teneur en atomes du courant gazeux n'est possible que dans le cas où l'on observe une zone, où est réalisé un équilibre thermique, c'est-à-dire la partie inférieure du cône externe.

L'étude générale concernant la formation de la vapeur atomique a montré précédemment la nécessité d'opérer sur une solution relativement peu concentrée. En outre, chaque changement d'état est d'autant plus long que la taille de la particule intéressée est plus grande. L'élévation de la température accélère ces processus, mais elle accélère également les phénomènes d'oxydation ou d'ionisation. Il y a donc un optimum à trouver pour chaque cas particulier et l'importance de la taille des gouttelettes de nébulisat est considérable. A titre d'exemple, une gouttelette de 1 micromètre introduite dans la flamme air acétylène ayant une vitesse de $10 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ est transformée en vapeur atomique en 0,03 mm de parcours, alors qu'il faut une distance 100 fois plus grande pour vaporiser une particule 10 fois plus grosse seulement.

EFFET DISPERSIF*. — Si tous ces phénomènes ne sont pas produits avant l'arrivée dans le cône externe, il y a un risque important d'erreur dû à la diffraction lumineuse. En effet, si des particules, solides ou liquides, ne sont pas entièrement volatilisées avant l'arrivée dans le cône externe, elle font écran à la lumière et la diffractent. Dans le cas d'une spectrométrie d'absorption, il en résulte une perte de lumière, qui est alors interprétée comme une absorption supplémentaire, d'où un risque d'erreur par excès.

Mais ces particules sont incandescentes et comme telles, elle émettent de la lumière, il y a donc éventuellement un risque d'erreur, si dans le spectre émis, se trouve la radiation monochromatique étudiée. Cette erreur est par défaut en absorption et par excès en émission.

En outre, les particules qui n'ont pas été volatilisées n'ont donc pas libéré les atomes qui les forment; il en résulte une erreur par défaut tant en émission qu'en absorption. L'incidence de cet effet dispersif sur les mesures n'est donc pas prévisible et rend illusoire toute recherche de précision. La méthode la plus sûre pour éviter cet effet est donc d'opérer sur des gouttes de nébulisat aussi petites que possible et avec des solutions initiales diluées.

FORMATION D'OXYDES OU DE SELS PEU VOLATILS. — Ces phénomènes perturbateurs ont été décrits précédemment. Pour y remédier, il est possible d'agir sur la température de la flamme, puisque la constante d'équilibre augmente avec la température; mais en réalisant une flamme plus chaude, on la rend généralement plus oxydante, d'où formation accrue d'oxydes. D'autre part, si l'on rend la flamme moins oxydante par réduction du débit de comburant, la température baisse et la constante d'équilibre diminue.

Il existe un autre moyen, utilisé en spectrométrie d'absorption atomique pour pallier ces inconvénients. Il consiste à ajouter à la solution initiale, un ion susceptible de donner des sels (phosphates), ou des oxydes, encore plus réfractaires que ceux de l'élément étudié. Il y a alors déplacement de celui-ci à partir de ses composés réfractaires pour respecter la constante d'équilibre. Le sel le plus utilisé à cet effet est le chlorure de lanthane.

* en anglais scattering effect.

IONISATION DES ATOMES. — Elle correspond à un équilibre où intervient la pression partielle d'électrons. Or, c'est la composition totale de la vapeur et donc de la solution initiale qui est en cause, car les électrons peuvent provenir de l'ionisation de tout atome.

Le moyen utilisable pour limiter l'ionisation d'un atome donné consiste donc à ajouter à la solution, un sel d'un métal facilement ionisable, comme un halogénure alcalin. On atteint ainsi une pression d'électrons suffisante pour rendre très faible le phénomène; on dit que l'on a atteint un *plateau d'ionisation*.

● ***Vaporisation par la flamme sans nébulisation.*** — **Formation d'hydrures volatils.**

En faisant réagir dans la solution l'hydrogène (zinc + acide chlorhydrique) ou un borohydrure alcalin en milieu acide, on obtient des hydrures métalliques volatils; ces dérivés peuvent être entraînés par un courant gazeux et sont ensuite brûlés dans la flamme. Ils peuvent également être décomposés en hydrogène et vapeur métallique par simple chauffage sans flamme vers 1 000 °C.

● ***Formation de vapeur atomique sans flamme.*** — **Vapeur froide.** — Dans le cas des dérivés mercuriels notamment, il est possible de réduire chimiquement le mercure à l'état élémentaire; on entraîne le métal ainsi formé, sous forme de vapeur, par un courant gazeux inerte, à une température inférieure à 100 °C.

Systèmes électrothermiques (fours). — L'échantillon liquide ou même solide, est placé dans un tube de carbone (graphite) élément réfractaire et peu susceptible de réagir sur les atomes libres. Pour éviter encore plus la formation de carbures métalliques ou métalloïdiques souvent réfractaires, l'intérieur en est souvent recouvert d'une couche de carbone pyrolytique encore plus inerte chimiquement.

Le tube à l'intérieur duquel passe le faisceau lumineux monochromatique, est chauffé par une résistance électrique (effet Joule), en présence d'un courant de gaz inerte pour éviter toute oxydation ultérieure des atomes par l'oxygène de l'air. L'azote initialement envisagé risque de former parfois des nitrures réfractaires; aussi est-ce le plus fréquemment l'argon qui est utilisé.

L'intérêt de ce système est de permettre une séparation des différentes étapes citées ci-dessus, en fonction du temps.

L'élimination du solvant est tout d'abord obtenue en portant le four à la température d'ébullition du solvant. La vapeur en est entraînée par le courant gazeux et ne pourra plus réagir ultérieurement avec la vapeur atomique.

L'élévation de la température (entre 200 et 1 800 °C environ) permet ensuite une destruction de la matière organique éventuelle par *pyrolyse* et une élimination de produits minéraux relativement volatils, qui ne laissent qu'une faible quantité du dépôt initial, sans pour autant entraîner la perte d'atomes à doser par volatilisation.

La formation de vapeur atomique est alors obtenue par une nouvelle augmentation de la température permettant la volatilisation et la dissociation

des sels ou oxydes à doser. La quantité d'atomes présents dans la vapeur n'est pas constante dans le temps comme cela est le cas lors de l'utilisation d'un nébulisat. Ici, comme la vaporisation demande un certain délai et que le courant gazeux entraîne peu à peu la vapeur atomique formée, la variation de l'intensité lumineuse absorbée, proportionnelle au nombre d'atomes présents, correspond à une courbe de Gauss. Pour augmenter au maximum le temps pendant lequel le faisceau lumineux est en contact avec la vapeur atomique (et donc la sensibilité) il est possible de diminuer le débit gazeux, voire même de l'arrêter pendant un temps suffisamment court pour ne pas endommager l'appareil.

Une dernière étape consiste à porter la température à sa valeur maximale pendant un temps court pour éliminer tout résidu dans le four.

Le principal avantage de ce procédé est l'augmentation de la sensibilité en raison du temps, 100 à 1 000 fois plus long que dans la flamme, du séjour des atomes dans le faisceau lumineux et de l'absence d'interférence dû au caractère oxydant de la flamme.

En outre, il permet de réaliser des dosages d'une part sur des solutions concentrées et même des poudres et, d'autre part, sur de petits volumes de prise d'essai (quelques microlitres). Les applications aux microdosages en biologie, et au dosage des éléments à l'état de traces (oligo-éléments, polluants...) sont la conséquence directe de ces observations.

Arc et étincelle électriques. — La première de ces méthodes peut être utilisée pour former une vapeur atomique contenant essentiellement des atomes à l'état fondamental et donc susceptibles de réaliser l'absorption atomique. Toutefois elle est plus généralement appliquée à la formation d'atomes excités, donc à une spectroscopie d'émission. La seconde est toujours utilisée dans ce dernier cas.

L'*arc électrique* est obtenu en établissant entre deux électrodes, un courant continu de l'ordre de 4 ampères sous 110 à 220 volts. Les 2 électrodes peuvent être réalisées dans le métal dont on veut obtenir la vapeur atomique et l'émission lumineuse des atomes excités. Mais plus généralement, on opère entre une électrode constituée de l'échantillon ou le portant, et une contre électrode qui ne doit pas contenir l'élément étudié. Lorsque l'échantillon n'est pas susceptible d'être façonné directement en électrode, mais qu'il existe sous forme de poudre, voire de liquide, il peut être placé dans une cavité creusée à l'extrémité d'un barreau de graphite. Ce barreau est placé verticalement pour des raisons pratiques, la cavité en haut, c'est-à-dire en position d'électrode inférieure, et connecté au circuit, généralement en tant qu'anode. L'électrode supérieure (cathode) est également un barreau de graphite, le plus souvent à extrémité effilée. Le graphite présente l'avantage d'être hautement réfractaire et suffisamment bon conducteur de l'électricité. De plus, il n'introduit pas de raies spectrales qui lui soient propres. Il a cependant un inconvénient : le carbone chauffé réagit vigoureusement avec l'azote de l'air pour former du cyanogène qui, par excitation, donne des bandes lumineuses dans la région de 360 à 420 nm. Pour pallier cette difficulté, l'arc peut être entouré d'une enveloppe contenant de la vapeur d'eau ou un gaz inerte.

Il est également possible d'opérer sous vide ou tout au moins sous pression très réduite, de l'ordre de 1 millibar d'un gaz ou d'une substance pouvant exister sous forme de vapeur : mercure, sodium. Cette décharge électrique dans les gaz raréfiés est mise à profit dans les tubes de Geissler (lampes à vapeur de mercure, lampes au xénon).

L'étincelle électrique correspond à un phénomène assez analogue au précédent. Une étincelle jaillit entre deux électrodes dont la différence de potentiel est au moins de l'ordre de 15 000 à 40 000 volts. Contrairement à l'arc électrique, il s'agit d'un phénomène très bref de l'ordre de la microseconde. Ce sont souvent des électrodes de quartz, percées d'un capillaire amenant la solution à examiner, qui sont utilisées. L'excitation est évidemment beaucoup plus forte qu'avec l'arc électrique.

Plasma. — Les plasmas sont des gaz dans lesquels un apport important d'énergie a permis une ionisation plus ou moins grande. Pour des raisons d'absence de réactivité, de relative facilité d'ionisation et de bonne conductivité électrique, le gaz plasmagène le plus fréquemment utilisé est l'argon.

L'énergie susceptible d'être fournie par ces plasmas est considérablement plus importante que celle d'une flamme. En effet, la température atteinte correspond à des valeurs de 5 000 à 6 000° K, mais la plupart des plasmas ne sont pas en équilibre thermodynamique.

C'est déjà un plasma qui est produit dans l'arc ou l'étincelle électrique, mais ici il est formé uniquement à partir de gaz rare et maintenu sous forme d'un courant gazeux un peu analogue à celui d'une flamme, d'où le nom impropre de « flamme électrique » qui leur est parfois donné. Il est préférable de les appeler *torche à plasma*.

Il existe des plasmas à courant continu obtenu par décharge entre 2 électrodes, dits plasma-arcs. Mais ce sont surtout les plasmas dans lesquels l'énergie est fournie par une radiofréquence qui sont utilisés. Ils sont couramment nommés plasmas induits par haute fréquence (PIHF)*.

D'un point de vue pratique, la solution à doser, est nébulisée, puis après dessiccation pour éviter toute perte inutile d'énergie, le nébulisat est introduit dans le plasma où il subit immédiatement, compte tenu de l'énergie mise en œuvre, une transformation en vapeur atomique et souvent même en ions.

A ces températures, il n'existe plus de corps réfractaires et même les oxydes les moins volatils sont dissociés.

Laser. — Un rayonnement laser peut être focalisé sur une surface très faible de l'échantillon. Il provoque une vaporisation localisée, même dans le cas des produits les plus réfractaires. La vapeur atomique ainsi formée peut avoir reçu suffisamment d'énergie pour contenir une certaine quantité d'atomes excités. La localisation très précise de l'effet peut être un avantage, en permettant l'examen de surfaces très faibles de l'ordre du millièème de millimètre carré;

* En anglais : inductively coupled plasma (ICP).

elle peut aussi être un inconvénient, car elle rend assez illusoire la représentativité de l'échantillon analysé, dans le domaine macroscopique. En revanche, un second avantage de l'utilisation du laser est que l'échantillon n'a pas besoin d'être conducteur de l'électricité.

Sélection des radiations

On peut utiliser des filtres interférentiels ou mieux des systèmes dispersifs : prismes ou réseaux. Leur étude a été réalisée au cours de physique et il n'est pas dans le but de ce manuel de traiter cette question.

Détection et mesure des intensités lumineuses

Initialement, la détection fut visuelle. Cette méthode peu précise est encore utilisée dans les *spectroscopes*. Il est également possible d'opérer par enregistrement photographique : c'est la *spectrographie*. Après détermination de la longueur d'onde sur la plaque photographique, les intensités sont mesurées par microphotométrie.

Mais le système le plus habituel est fondé sur l'effet photoélectrique. Il utilise des photomultiplicateurs d'électrons dont le principe a été exposé au cours de physique : c'est la *spectrométrie*.

MÉTHODES UTILISANT L'ÉMISSION

Ce sont les plus anciennement connues; elles nécessitent l'excitation des atomes et donc la cession d'une énergie suffisante pour dépasser le ou les potentiels d'excitation.

Spectrométries d'arc et d'étincelle

Le spectre est riche en raies, puisque l'excitation a été très intense, allant même dans le cas du spectre d'étincelle jusqu'à l'ionisation. Il existe donc de nombreuses transitions possibles jusqu'à ce que l'atome retrouve l'état fondamental.

Si l'interprétation se fait dans un but qualitatif, la longueur d'onde des raies les plus caractéristiques de l'élément est mesurée. Ces raies sont, soit les plus intenses, soit celles qui sont situées dans une zone peu encombrée du spectre et donc faciles à identifier.

Mais il est également possible de mesurer l'intensité d'une raie donnée pour faire une détermination quantitative. La difficulté est de relier cette intensité lumineuse à la concentration en atomes (ou en ions) initialement présents dans l'échantillon. Pour que des mesures absolues soient possibles, il faudrait que le pourcentage d'atomes excités par rapport au nombre total d'atomes

contenus dans la vapeur soit constant, donc que l'équilibre des températures soit satisfaisant. Or étant données les fluctuations de la source au cours des diverses mesures, celui-ci est assez illusoire. La meilleure solution consiste à réaliser une détermination relative en utilisant un étalonnage interne.

Dans cette méthode, on mesure le rapport des intensités de deux raies appartenant aux spectres de 2 éléments distincts. La concentration de l'échantillon dans l'un des éléments est connue, c'est donc l'étalon. Elle permet de déterminer la concentration inconnue dans l'autre élément sous certaines conditions. Il faut que les longueurs d'onde des deux raies soient assez voisines et que les potentiels d'excitation soient également aussi proches que possibles. Ces 2 raies ainsi choisies sont appelées *paire homologue*.

L'intensité lumineuse des 2 raies varie alors parallèlement en fonction de la concentration selon

$$i_1 = K_1 c_1 \text{ pour le 1}^{\text{er}} \text{ élément}$$

$$i_2 = K_2 c_2 \text{ pour le 2}^{\text{e}} \text{ élément}$$

Sur un échantillon dont les concentrations dans les 2 éléments sont connues, on détermine les constantes K_1 et K_2 .

Il est ensuite aisé, en faisant le rapport des intensités lumineuses mesurées, d'en déduire la concentration en élément à doser. De l'équation

$$\frac{i_1}{i_2} = \frac{K_1 c_1}{K_2 c_2}$$

il est facile de tirer c_1 connaissant c_2

$$c_1 = \frac{i_1}{i_2} \frac{K_2}{K_1} c_2$$

Des tables indiquent les paires d'éléments donnant des raies homologues, les longueurs d'onde de celles-ci et le rapport des constantes K_1/K_2 .

A titre d'exemple, pour doser des traces de magnésium, c'est le molybdène qui est utilisé comme étalon. Plusieurs paires homologues sont utilisables dans ce cas. Les raies à 279,8 nm (Mg) et 281,6 nm (Mo) forment l'une de ces paires. Le rapport des intensités lumineuses émises est reporté en ordonnées sur un papier logarithmique (ou la différence des absorbances sur un papier semi-logarithmique à ordonnée linéaire) et donne en abscisses la concentration en magnésium pour une concentration fixe en molybdène (fig. 8).

Cette méthode rapide est en même temps très sensible. Dans l'exemple choisi, il est possible de déterminer 1 nanogramme (10^{-9} g) de magnésium dans un volume de 1 millilitre, avec une précision de 5 à 10 pour cent, qui est satisfaisante au vu des faibles quantités mises en jeu.

De même, après concentration au moyen d'une précipitation sous forme d'oxinate, en utilisant le chlorure d'indium comme entraîneur et le chlorure de palladium comme étalon interne, il est possible de déterminer des quantités de l'ordre de la partie par milliard (p.p.b.) de nombreux métaux de transition dans du chlorure de potassium.

Il faut cependant noter que ces méthodes sont concurrencées par la spectrométrie d'émission de rayons X (fluorescence X), encore beaucoup plus sensible.

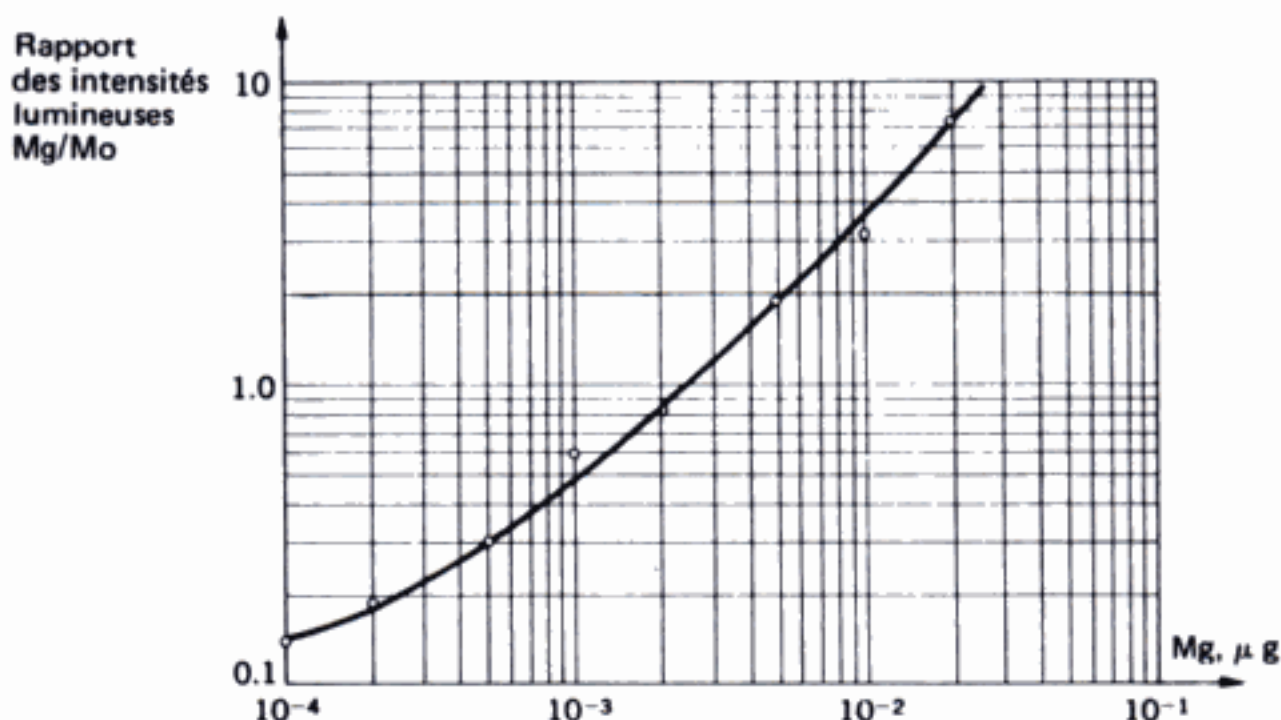


FIG. 8. — Courbe d'étalonnage pour le dosage du magnésium en utilisant le molybdène comme étalon interne.

Photométrie de flamme

Le terme exact devrait être photométrie de flamme par émission, mais comme pendant très longtemps l'émission a été la seule façon de faire des dosages en spectrophotométrie de flamme, l'habitude a prévalu de garder ce nom pour la méthode utilisant l'émission, et de nommer, par opposition, spectrophotométrie par absorption atomique, la méthode analytique qui peut également faire appel à la flamme pour former la vapeur atomique mais qui opère par absorption d'une radiation lumineuse.

● **Champ d'application.** — Dans le cas de l'émission, la formation d'atomes libres, mais également leur excitation, sont réalisées par la flamme. Parmi les raies émises par l'élément à doser, c'est généralement la plus intense qui est choisie, et donc d'après ce qui a été dit précédemment (v. p. 14) la raie de résonance. En effet l'énergie fournie par la flamme est beaucoup moins importante que dans le cas de l'arc électrique, et l'excitation la plus probable est celle qui amène à un niveau énergétique immédiatement supérieur au niveau fondamental. Ceci n'est d'ailleurs pas un inconvénient, puisque l'on concentre les échanges d'énergie sur une seule raie dont l'intensité est donc grande.

Mais pour qu'il y ait émission observable, il faut que le nombre d'atomes excités soit suffisamment grand et donc que le potentiel d'excitation de l'élément considéré ne soit pas trop élevé. En pratique, seuls les éléments alcalins, alcalinoterreux et quelques métaux lourds sont dosables par cette technique.

• **Appareillage.** — Les problèmes posés par la nature du mélange en ignition et par le pulvérisateur (nébuliseur) ont été traités précédemment. Comme il est nécessaire d'éliminer, outre les raies émises par d'autres atomes, les bandes spectrales provenant de molécules issues de la combustion (eau, oxydes de carbone, cyanogène...), et le spectre continu de la flamme, un dispositif de sélection des raies est placé entre la flamme et le système détecteur. Dans les appareils les plus simples, il s'agit d'un filtre interférentiel; les plus élaborés comportent prisme ou réseau.

Le dispositif de mesure, cellule photoélectrique ou photomultiplicateur, produit un courant qui est envoyé dans un milliampèremètre.

Il est possible de lire directement la déviation de l'appareil, mais également de faire l'intégration des mesures pendant un temps donné. Cette dernière technique, dans laquelle la valeur n'est donnée qu'après un temps déterminé améliore la stabilité et donc souvent la précision.

Il est important de remarquer que l'intensité lumineuse émise n'est souvent pas exactement proportionnelle à la concentration des solutions. En d'autres termes, la courbe d'étalonnage n'est pas linéaire. C'est le cas, en particulier, du dosage du sodium. Il est donc nécessaire de préparer plusieurs solutions étalons et de réaliser des mesures relatives en encadrant le dosage entre deux étalons.

• **Caractéristiques de la méthode.** — Les appareils courants permettent surtout le dosage des métaux alcalins : potassium, sodium, lithium. Ceci conduit à une utilisation dans le domaine biologique (potassium et sodium) et pharmacologique (lithium).

Il y a toujours intérêt à atteindre un plateau d'ionisation, c'est-à-dire à introduire dans la solution à doser une quantité suffisante d'halogénures de métaux facilement ionisables, pour limiter au maximum les erreurs dues à l'ionisation. Par exemple, on ajoute une quantité relativement importante de sel de sodium pour doser le potassium (ce qui correspond au cas du sérum sanguin), mais également une quantité suffisante de sel de potassium pour doser le sodium.

Dans ces conditions, la sensibilité de la méthode est de l'ordre de 0,1 à 0,01 partie par million (p.p.m.) selon les appareils et la précision d'environ 5 %.

Photométrie de flamme appliquée aux molécules

Bien qu'aux températures utilisées, les molécules soient très généralement dissociées en atomes, un certain nombre d'exemples de molécules stables dans ces conditions ont été donnés. Leur présence est généralement gênante (cyanogène). Cependant, des méthodes analytiques nouvelles sont fondées sur leur dosage par spectrophotométrie d'émission dans une flamme, et c'est la raison pour laquelle cette technique est rapprochée de la photométrie de flamme classique, qui concerne les atomes. Les molécules intéressées contiennent du soufre ou du phosphore et permettent donc le dosage indirect de ces éléments, ce qui a fait dire que l'on pouvait réaliser le dosage du soufre

et du phosphore par photométrie de flamme. Mais il faut préciser qu'il ne s'agit pas du dosage de ces éléments à l'état atomique. Cette méthode est surtout appliquée à la détection de composés soufrés ou phosphorés en chromatographie en phase gazeuse (v. Tome II p. 221).

Le principe de la méthode consiste à porter des dérivés organiques de ces deux métalloïdes dans une flamme hydrogène-air pauvre en comburant donc réductrice. Dans ces conditions opératoires bien précises on observe une émission lumineuse centrée sur 526 nm pour le phosphore et 394 nm pour le soufre. En réalité, l'émission à 526 nm correspond à l'excitation d'un composé HPO et celle à 394 nm, de molécules de soufre S_2 .

Spectrométrie d'émission par plasma

Cette technique se développe rapidement et tend à concurrencer dans de nombreux domaines la spectrométrie par absorption atomique.

En effet, en raison de l'importance de l'énergie, qui correspond à des températures de l'ordre de 5 000 à 6 000 °C, il n'existe plus de sels réfractaires dont la dissociation en atomes ne serait pas possible.

Seuls de rares radicaux ou molécules peuvent persister dans ces conditions : ce sont notamment OH^* , C_2 , N_2 et N_2^+ .

Pratiquement tous les éléments sont susceptibles d'être dosés. Que ce soit à l'état d'atomes neutres excités ou à l'état d'ions eux-mêmes excités, ils sont susceptibles d'émettre des radiations dans le domaine du visible ou de l'ultraviolet. Même les halogènes donnent dans ces conditions des spectres utilisables.

L'avantage principal sur la spectrométrie par absorption atomique réside dans le fait qu'elle ne nécessite pas l'emploi d'une source de radiation monochromatique différente pour chaque élément. En outre sa sensibilité est très souvent supérieure à celle de la méthode par absorption en flamme. En revanche, la nécessité d'un système plus compliqué au niveau du nébuliseur (puisque'il faut sécher le nébulisat formé) entraîne un certain défaut de reproductibilité et une précision fréquemment inférieure à celle de la spectrométrie par absorption atomique avec four dans le cas du dosage des faibles traces d'éléments.

Il est en revanche intéressant de noter que le dosage du carbone et donc de traces de produits organiques est possible en utilisant la bande d'émission de la molécule C_2 dont il a été fait mention précédemment.

MÉTHODE UTILISANT L'ABSORPTION : SPECTROPHOTOMÉTRIE PAR ABSORPTION ATOMIQUE

Bien qu'en théorie rien ne s'oppose à une absorption d'une lumière convenablement choisie par les atomes, la mise au point d'une méthode de dosage fondée sur ce principe a présenté beaucoup plus de difficultés que les précédentes et ce n'est qu'en 1955 qu'elle a été réalisée par Walsh.

Principe

Le principe en est simple : un faisceau de lumière monochromatique de fréquence telle qu'il soit absorbable par l'élément à doser est envoyé dans une vapeur atomique de cet élément. La mesure de l'intensité lumineuse, avant et après le passage dans la vapeur atomique permet de déterminer le pourcentage d'absorption. Dans des conditions bien déterminées, celui-ci est fonction non seulement de la concentration en atomes de la vapeur atomique, qui n'a pas grand intérêt, mais surtout de la concentration de la solution ou du produit initial que l'on cherche à déterminer. Pour obtenir ce résultat, il faut produire un faisceau de lumière incidente suffisamment intense. Mais il est nécessaire également que le mode de production de la vapeur atomique soit bien précisé. En effet, si l'on compare cette méthode à une colorimétrie classique suivant la loi de Beer-Lambert, l'on retrouve les mêmes éléments, mais les difficultés sont plus grandes. Le milieu absorbant qui doit être produit par transformation du produit à doser, n'est pas une solution liquide de concentration constante, mais un gaz dont la concentration est sujette à beaucoup plus de fluctuations. En outre, les atomes peuvent exister dans cette vapeur à des niveaux d'énergie différents, et il faut que le plus grand nombre possible se trouve à un niveau compatible avec l'absorption, c'est-à-dire au niveau fondamental. Il convient également de rappeler (v. p. 19) que la lumière doit être assez rigoureusement monochromatique. Enfin il faut, lors de la mesure de l'intensité lumineuse après absorption, éliminer l'interférence de lumière parasite due à la réémission des atomes excités, mais aussi au spectre propre de la flamme.

Comparaison avec la photométrie de flamme (par émission)

Cette comparaison s'impose notamment lorsque la vapeur atomique est produite à l'aide d'une flamme. Elle permet de souligner les différences entre les deux méthodes

- **Phénomènes produits dans la flamme.** — En effet, si les phénomènes produits dans la flamme sont évidemment identiques dans les deux cas, ce ne sont pas les mêmes que l'on exploite : dans l'émission, on recherche l'excitation des atomes pour qu'ils puissent ensuite émettre. En absorption atomique, on cherche à s'arrêter au stade de la dissociation des molécules en atomes libres, mais à l'état énergétique fondamental, afin qu'ils puissent absorber.
- **Niveau énergétique.** — Si dans la photométrie d'émission, tous les atomes excités émettent, puisque seul le niveau fondamental est stable, en absorption, tous les atomes susceptibles d'absorber ne le font pas obligatoirement. Il est nécessaire pour cela, que l'atome rencontre un photon; il n'y a donc qu'une certaine probabilité de rencontre. Cette probabilité est d'autant plus grande que le nombre d'atomes est plus grand, mais il a été indiqué précédemment

que pour d'autres raisons il était souhaitable d'opérer en milieu dilué (p. 31). Pour augmenter les chances de l'absorption il est donc souhaitable d'augmenter le nombre de photons et donc l'intensité lumineuse mais aussi l'épaisseur de vapeur atomique traversée.

● *Avantages de l'absorption.* — Ils découlent du fait que l'on s'adresse à des atomes à l'état fondamental. Dans l'émission, la sensibilité dépend du rapport entre le nombre N' des atomes excités et celui N beaucoup plus grand des atomes à l'état fondamental, puisque ce sont les premiers qui émettent. Dans l'absorption, ce sont les atomes à l'état énergétique le plus peuplé qui interviennent. Il n'y a donc plus de limitation par les potentiels d'excitation ou d'ionisation. Il suffit seulement que la dissociation en atomes soit suffisante. Ceci a pour résultat l'application de la méthode par absorption atomique, à un bien plus grand nombre d'éléments que dans le cas de l'émission. Pratiquement, tous les métaux sont dosables et même certains métalloïdes; seuls sont exclus les atomes dont les raies de résonance se trouvent dans le très lointain ultraviolet ($\lambda < 180$ nm) où les difficultés d'appareillage sont grandes : c'est le cas notamment de l'oxygène, de l'azote, du carbone, des halogènes, du soufre ou du phosphore.

Appareillage

Il comporte schématiquement :

- une source lumineuse,
- un système de production de la vapeur atomique,
- un monochromateur et un récepteur.

Production de la vapeur atomique

Les questions touchant à la production de vapeur atomique ont été traitées précédemment (p. 23). Dans le cas de la spectrométrie par absorption atomique les moyens les plus employés sont la nébulisation dans la flamme, mais aussi et de plus en plus les fours en carbone. Dans le cas de l'utilisation d'une flamme, le brûleur est d'une forme allongée, en pinceau, afin de permettre une probabilité de rencontre plus grande entre un photon et un atome.

Source lumineuse

C'est un organe essentiel car la mesure dépend en grande partie de ses caractéristiques. En effet, l'intensité émise doit être aussi grande que possible, car ce n'est que si le flux de photons est suffisamment important que la probabilité de rencontre avec un atome est suffisamment grande pour espérer une mesure quantitative.

Mais cette intensité émise ne doit pas être dispersée dans tout le spectre

car une seule fréquence va être utilisée : il faut donc condenser sur cette fréquence le plus d'énergie possible. Si donc, en théorie l'utilisation d'un spectre continu n'est pas à rejeter, à condition de disposer d'un monochromateur suffisamment sélectif et résolutif pour obtenir une raie de largeur maximale de 3 pm (v. p. 20), en pratique, la construction d'un tel monochromateur serait très onéreuse et surtout il y aurait une perte considérable d'énergie conduisant à une intensité trop faible pour la raie considérée.

En outre, l'intensité émise doit être constante, c'est-à-dire la source stable. En effet, les mesures quantitatives sont fondées sur la loi de Beer-Lambert. Il serait illusoire de prétendre à des mesures exactes, si l'intensité initiale variait entre le passage de solutions étalon et de la solution à doser.

Enfin, la raie doit être suffisamment fine pour que le coefficient d'extinction soit une constante.

● **Choix de la radiation.** — Très généralement, on utilise la radiation de résonance, bien que toute raie de la série principale soit exploitable. Toutes ces transitions font intervenir comme point de départ en absorption, ou comme point d'arrivée en émission, le niveau fondamental de l'élément. Si la raie de résonance est préférée, c'est qu'elle présente la plus forte intensité, puisqu'elle met en jeu l'énergie la moins importante. C'est même souvent la seule qui présente avec les sources usuelles une intensité suffisante.

Parmi les raies de résonance d'un élément (doublet de la raie D du sodium), il n'est pas indifférent d'utiliser l'une ou l'autre, car l'intensité n'est pas identique pour les deux. C'est classiquement la plus intense qui est choisie, l'autre n'étant employée que si l'on veut diminuer la sensibilité en raison de concentrations importantes. L'utilisation des autres raies de la série principale n'est envisagée qu'en cas d'interférences spectrales.

● **Réalisation pratique de la source.** — L'utilisation d'un spectre continu étant rejetée, il faut donc s'orienter vers l'obtention d'un spectre de raies. Pour obtenir la raie de résonance, il suffit de disposer d'une source contenant elle-même le métal ou le métalloïde concerné, à l'état de vapeur atomique. L'excitation de cette vapeur fournit le spectre caractéristique de l'élément.

A partir de ce spectre, il reste à isoler la raie choisie, grâce à un monochromateur. Ce dernier doit être de bonne qualité, mais n'a pas besoin d'être aussi sélectif que si l'on utilisait un spectre continu puisque les différentes raies sont bien séparées. En pratique, une résolution de 2×10^{-1} nm est suffisante et permet une bonne luminosité. Le seul point délicat, pour obtenir une raie aussi fine qu'il est nécessaire, est de veiller à diminuer tous les phénomènes d'élargissement qui ont été indiqués précédemment (p. 19). Il convient de noter ici un inconvénient de la spectrophotométrie par absorption atomique par rapport à la spectrophotométrie d'émission par plasma : c'est la nécessité d'utiliser une source différente pour chaque élément à doser.

Différents types de lampes utilisées

Elles utilisent toutes, la luminescence produite par une décharge électrique dans des gaz sous pression réduite; ceux-ci peuvent être des gaz permanents (argon, néon, azote) mais aussi des vapeurs (mercure, sodium...).

● **Lampes à vapeur spectrale.** — Lorsque le métal dont on veut obtenir le spectre est aisément volatilisable, il suffit de l'introduire dans une enceinte sous-vide qui comporte évidemment une anode et une cathode. Une différence de potentiel est appliquée et permet le chauffage et l'allumage. Les lampes les plus utilisées sont à vapeur de mercure, de thallium, de métaux alcalins (surtout le césium). Toutefois elles tendent à disparaître devant les autres matériels.

● **Lampes à cathode creuse.** — Elles sont nécessaires dans le cas où l'obtention directe de vapeur atomique n'est pas suffisamment facile. Une telle lampe est constituée par un tube rempli sous très faible pression d'un gaz rare : néon, hélium, argon, (tube de Geissler) dont l'anode est un simple fil métallique le plus souvent en tungstène, mais dont la cathode est constituée par l'élément dont on veut obtenir le spectre. Cette dernière électrode se présente souvent sous la forme d'un cylindre métallique creux dans lequel a été déposé le métal ou le métalloïde. Compte tenu de la forme de la cathode, cet élément peut être liquide.

En effet, très souvent les bords du cylindre formant l'électrode sont légèrement refermés pour éviter tout écoulement (fig. 9).

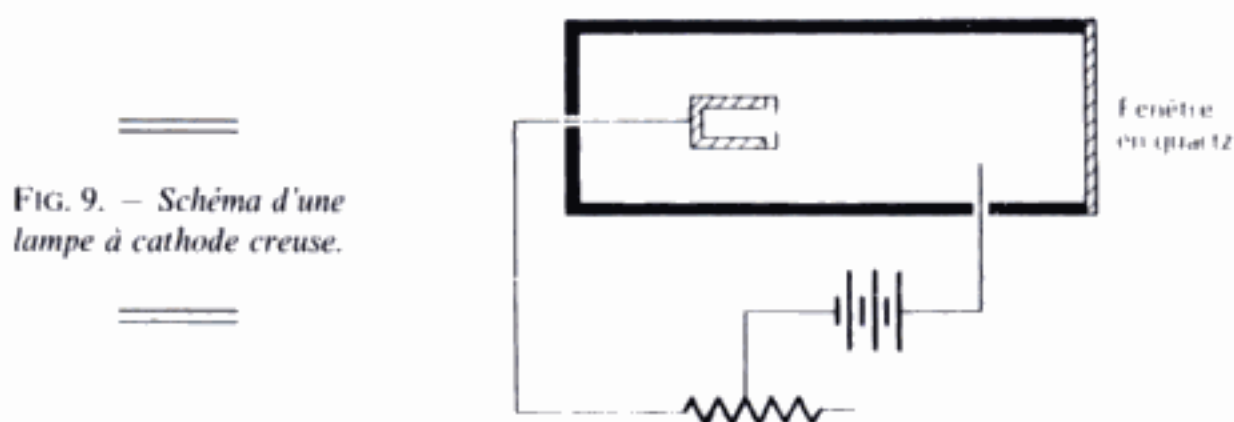


FIG. 9. — Schéma d'une lampe à cathode creuse.

Un courant continu est appliqué avec une intensité que l'on peut régler, mais qui, une fois choisie, est maintenue stable.

Sous l'effet du courant le gaz s'ionise et donne par exemple des ions He^+ ou Ne^+ ... Ces ions positifs sont attirés par la cathode d'une façon d'autant plus forte que la différence de potentiel est grande. Si les ions sont suffisamment accélérés du fait de cette attraction, ils acquièrent une énergie telle que, lorsqu'ils frappent la cathode, ils en arrachent des atomes. Il se produit ainsi une vapeur atomique de l'élément contenu dans la cathode. Étant donné la forme de l'électrode, les atomes restent dans l'enceinte creuse et, en raison de

l'énergie cinétique qu'ils ont acquise, subissent, entre eux ou avec les ions de gaz rare, des chocs qui leur permettent d'emmagasinier de l'énergie. Ils atteignent ainsi un état énergétique excité. Ces états étant instables, les atomes retombent au niveau fondamental en émettant des radiations lumineuses de fréquences correspondant aux raies du spectre de l'élément contenu dans la cathode, et en particulier à la raie de résonance, puisque l'énergie nécessaire pour exciter l'atome est dans ce cas la plus petite possible et donc la plus probable.

Intensité lumineuse. — Elle est fonction de l'intensité électrique et de la différence de potentiel appliquées. En pratique, les lampes à cathode creuse sont alimentées sous 100 à 300 volts par 5 à 100 mA. Si l'intensité électrique augmente, l'ionisation du gaz rare augmente aussi et donc le nombre d'atomes métalliques arrachés et excités. Il en résulte une intensité lumineuse plus importante.

Stabilité d'émission. — Elle est liée à la stabilisation de l'intensité électrique. Toutefois l'équilibre d'émission n'est réalisé qu'à une température constante. Il faut donc initialement mettre en marche la lampe; par effet Joule sa température s'élève puis se stabilise au bout de 10 à 15 minutes. Cependant, même après ce temps, il y a un risque d'incandescence de l'anode ou du fil de la cathode qui peut faire brutalement baisser l'intensité lumineuse des raies.

Finesse des raies. — Elle dépend de la limitation des causes d'élargissement; or, si l'énergie fournie, c'est-à-dire l'intensité électrique, est augmentée pour obtenir une intensité lumineuse plus grande, les ions et les atomes arrachés sont accélérés, et l'on doit craindre l'élargissement par effet Doppler-Fizeau ou Lorentz. En même temps, le champ électrique existant entre anode et cathode s'accroît, d'où élargissement possible par effet Stark. Il y a donc là des exigences contradictoires concernant la finesse et l'intensité des raies. Il faut trouver un compromis et ne pas dépasser un optimum d'intensité électrique. Si celle-ci était augmentée considérablement, il faudrait craindre le phénomène d'autoabsorption au sein de la cathode (v. p. 20) et également une diminution de la durée de vie de la lampe.

Émission propre de la lampe. — En dehors du spectre de raies de l'élément métallique, la lampe émet le spectre du gaz rare et des ions et celui d'impuretés diverses. Le tout produit un spectre plus ou moins continu dont l'intensité est variable selon le gaz et la région du spectre. Il en résulte qu'en fonction de la longueur d'onde de résonance de l'élément à doser, on choisit le gaz rare qui donne le spectre continu (bruit de fond) le plus faible.

Lampes multiéléments. — Il est possible de fabriquer des lampes à cathode creuse avec un alliage (ou un simple mélange) de plusieurs métaux, à la seule condition que les raies utilisables pour chaque élément soient suffisamment éloignées. L'intérêt est de pouvoir doser plusieurs éléments sans changer la lampe. Ainsi des lampes existent, qui contiennent par exemple : calcium, magnésium et zinc (ou aluminium), ou encore : fer, cuivre, manganèse, chrome, cobalt, nickel. Il n'est possible d'associer ainsi, que des éléments nécessitant la même intensité du courant d'alimentation.

Lampes à haute intensité lumineuse. — Pour éviter d'augmenter l'intensité du courant d'alimentation, ce qui entraîne l'élargissement des raies, une source secondaire d'excitation des atomes déjà à l'état de vapeur est constituée par un couple d'électrodes

secondaires au voisinage immédiat de la cathode. On obtient ainsi une luminosité meilleure.

Lampes à émission pulsée. — En alimentant les lampes par un courant lui-même pulsé, on réalise une émission lumineuse variant d'une façon régulière. L'intérêt de telles lampes sera précisé à propos de la détection.

• **Lampes sans électrodes.** — Elles sont constituées d'une ampoule contenant soit l'élément lui-même soit un sel (iodure) de cet élément sous faible pression d'un gaz inerte.

Cette ampoule est placée dans un cylindre en céramique sur lequel est enroulé un résonateur hélicoïdal. Lorsqu'un champ de radiofréquence est appliqué, l'énergie produite ionise le gaz rare et excite les atomes.

L'intérêt de ces lampes tient à la grande intensité du spectre émis. Elles présentent en revanche souvent un élargissement des raies qui peut être nuisible.

Mesure de l'intensité lumineuse non absorbée

• **Difficultés particulières de la S.A.A.** — Cette mesure est réalisée par les moyens qui ont été indiqués précédemment mais un certain nombre de difficultés sont propres à l'absorption atomique.

Élimination de radiations parasites. — Outre la fraction de lumière émise par la source et non absorbée par la vapeur atomique, un certain nombre de radiations parasites interviennent également. Celles qui peuvent provenir de la source : raies du gaz rare, spectres d'impuretés, sont éliminables en quasi totalité en choisissant le gaz. Mais les plus gênantes sont celles issues de la flamme, et tout d'abord la lumière de longueur d'onde exactement identique à la radiation incidente, qui est réémise dans toutes les directions par les atomes excités, et en particulier dans une direction parallèle au faisceau lumineux. Cette réémission provoque donc une erreur par défaut. Il faut ajouter l'émission de bandes plus ou moins continues provenant de spectres moléculaires.

Fluctuations dues à l'appareillage. — Des variations peuvent apparaître tant dans l'émission de la source que dans la concentration en vapeur atomique. Il en résulte des risques d'erreur qu'il faut amenuiser le plus possible.

• **Élimination des causes d'erreur.** — Cette élimination doit être aussi totale que possible. Les améliorations de l'appareillage portent sur l'atténuation des erreurs dues à l'émission de radiations par la flamme et sur celles dues aux fluctuations de la source.

Élimination des radiations dues à la flamme. — Elle ne peut être que partielle. Elle est réalisée à 2 niveaux.

— **MONOCHROMATEUR.** — Tout d'abord, le monochromateur nécessaire pour sélectionner la radiation monochromatique choisie est placé non pas avant la flamme mais après celle-ci. Cette position permet en effet d'éliminer une grande partie du spectre émis par la flamme en même temps que les autres raies du spectre de la source. Elle ne présente pas d'inconvénient majeur, du fait que la source émet la radiation de résonance

avec une intensité lumineuse très supérieure à celle des autres raies. La proportion d'atomes de la vapeur, qui absorbent les photons correspondant à des raies, est ainsi négligeable.

— **MODULATEUR.** — Un disque* divisé en secteurs, alternativement transparents et opaques, et tournant dans un plan perpendiculaire au faisceau lumineux, est placé entre la source et la flamme et transforme ainsi le faisceau lumineux d'intensité constante en un faisceau alternatif (fig. 10). Par une construction appropriée, le système de détection n'amplifie que la lumière présentant ce caractère alternatif; c'est-à-dire celle qui provient de la source. Les radiations émises par la flamme ne sont donc pas amplifiées, mais elles sont malgré tout détectées. Aussi les appareils modernes n'utilisent-ils plus guère ce système.

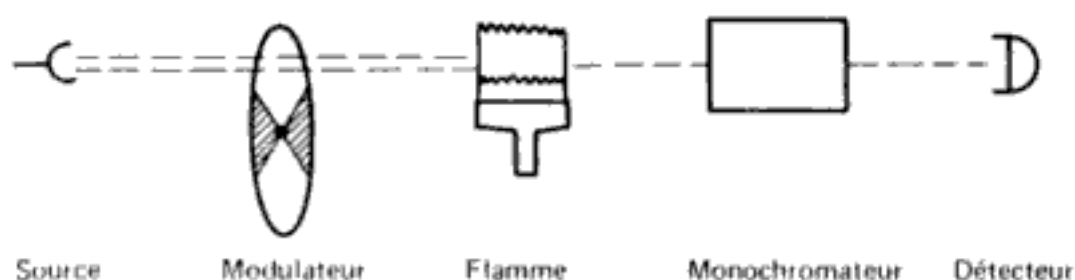


FIG. 10.

Élimination des fluctuations de la source : MONTAGE EN BIFAISCEAU. — A la place du modulateur, un dispositif tournant présentant des secteurs alternés transparents et réfléchissants est introduit. Son axe fait un angle de 45° avec le faisceau lumineux. Ce système permet d'envoyer alternativement la lumière par un chemin optique ne traversant pas la vapeur atomique : faisceau de référence, et directement à travers la flamme : faisceau de mesure (fig. 11).

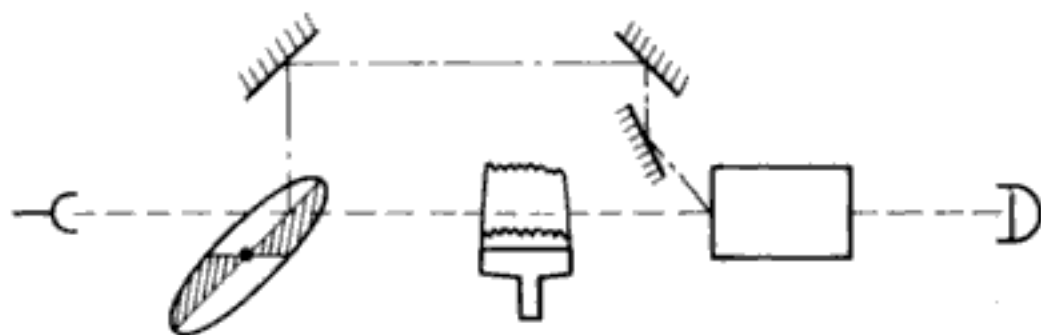


FIG. 11.

Ces 2 faisceaux sont donc envoyés successivement et avec une périodicité très petite dans le système de mesure qui est réglé pour mesurer à tout moment le rapport des intensités : I_0/I .

Dans un tel système, les perturbations dues à la flamme ne sont éliminées que si l'on a pris soin d'utiliser comme source une lampe à courant pulsé qui joue alors un rôle analogue au modulateur.

* En anglais chopper.

Correcteur de fond spectral à lampe de deutérium

Élimination de l'absorption non spécifique de la flamme. — Deux lampes sont utilisées pour ce montage :

- 1) une lampe à cathode creuse classique émettant la raie analytique,
- 2) une lampe à deutérium émettant un spectre continu.

Grâce à un obturateur tournant à miroir, analogue à celui qui a été indiqué dans le montage en bifaisceau, les 2 faisceaux traversent alternativement la flamme puis le monochromateur et arrivent sur le photomultiplicateur.

La radiation monochromatique émise par la lampe à cathode creuse est atténuée :

- par absorption spécifique de l'élément à doser
- par absorption propre de la flamme (fig. 12).

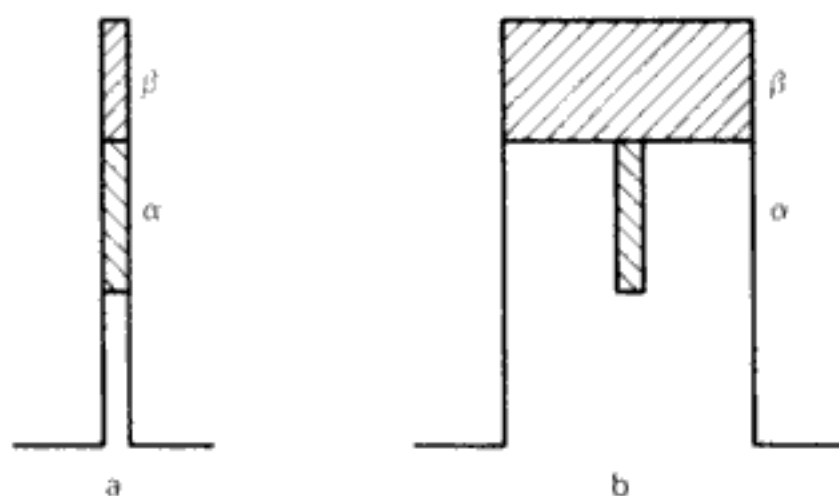


FIG. 12. — Absorption spécifique (α) et non spécifique (β) dans le cas :

- a) d'une radiation monochromatique,
- b) d'un faisceau émis par une lampe à deutérium.

Le faisceau émis par la lampe à deutérium a une largeur spectrale en longueurs d'onde qui correspond à celle de la bande passante du monochromateur. Cette largeur est beaucoup plus grande que celle de la radiation monochromatique utilisée pour l'analyse. Elle sortira de la flamme atténuée sur toute sa largeur puisque la flamme absorbe selon un spectre pratiquement continu. L'absorption due aux atomes de l'élément à doser ne fait intervenir qu'une largeur de raie très fine par rapport à la bande passante et est pratiquement négligeable. Le détecteur accordé sur la fréquence de rotation du miroir mesure la différence entre les absorbances des deux faisceaux, c'est-à-dire pratiquement l'absorbance spécifique.

Correcteur de fond spectral par effet Zeeman

Lorsqu'une source de lumière monochromatique est placée dans un champ magnétique, la raie émise se transforme en multiplet selon une répartition symétrique par rapport à la fréquence (ou à la longueur d'onde) initiale correspondant à l'absence de champ. Les différentes composantes du multiplet sont polarisées de manière différente.

Dans le cas où l'observation est faite dans une direction perpendiculaire à celle du champ magnétique, il apparaît un *triplet* dont les 3 composantes sont *polarisées rectilignes*. La raie centrale dont la longueur d'onde λ est celle de la lumière initiale, est polarisée dans une direction parallèle à celle du champ. Les deux raies latérales, situées symétriquement à des longueurs d'onde $\lambda - \Delta\lambda$ et $\lambda + \Delta\lambda$ sont polarisées dans une direction perpendiculaire à celle du champ ($\Delta\lambda$ dépend de la valeur du champ magnétique).

Si I est l'intensité lumineuse en l'absence de champ magnétique, les intensités de la raie centrale et de chacune des raies latérales sont respectivement $I/2$ et $I/4$.

L'utilisation en absorption atomique pour la correction de fond spectral consiste à appliquer un champ magnétique d'une manière modulée. La fréquence de modulation est identique à celle de l'amplificateur. Le champ magnétique peut être appliqué soit au niveau de la source lumineuse (effet Zeeman direct) soit au niveau de la vapeur atomique absorbante (effet Zeeman inverse).

La lumière traverse ensuite un polariseur fixe qui ne laisse passer que les radiations perpendiculaires au champ magnétique.

Lorsque le champ magnétique est nul, la radiation de longueur d'onde λ est la seule qui existe et elle n'est pas polarisée. Après le passage dans le polariseur, il est donc possible de détecter une certaine intensité lumineuse dont la valeur dépend de l'intensité absorbée tant d'une manière spécifique que non spécifique.

En revanche, lorsque le champ magnétique est appliqué, seules les raies polarisées perpendiculairement au champ peuvent traverser le polariseur. La raie centrale est donc éliminée et seules subsistent les deux radiations de longueur d'onde $\lambda \pm \Delta\lambda$ qui sont donc impossibles à absorber par les atomes de l'élément à doser. Seule l'absorption non spécifique est ainsi mesurée.

L'avantage de ce correcteur sur le système à lampe de deutérium réside dans le fait que les radiations étant produites par la même source, il n'y a aucun risque de constater la moindre modification géométrique ou quantitative au niveau du faisceau lumineux. La précision de la mesure en est donc améliorée.

Fluorescence atomique

Il est possible d'utiliser à des fins analytiques le phénomène considéré jusqu'à présent comme parasite, de l'émission de lumière par la vapeur atomique excitée par la radiation incidente. On peut mesurer en se plaçant perpendiculairement à la direction du faisceau incident l'intensité ainsi réémise. Par analogie avec le phénomène de fluorescence, on parle de fluorescence atomique.

La méthode la plus importante est la fluorescence de résonance dans laquelle la radiation excitatrice et la raie réémise ont la même longueur d'onde. Généralement ni les sources continues, même les plus fortes (arc au xénon), ni les lampes à cathode creuse ne donnent une intensité lumineuse assez importante pour obtenir une absorption et donc une réémission suffisante. La source utilisée est généralement une lampe à décharge sans électrode qui comporte une enceinte de quartz contenant une faible quantité de métal et un gaz rare — très généralement l'argon — sous faible pression. L'ensemble est excité par un champ intense de microondes et émet pratiquement le même spectre qu'une lampe à cathode creuse, mais avec une intensité plus grande. Ici la largeur de la raie émise par la lampe n'a pas d'importance puisqu'on ne mesure pas l'absorption.

Tableau IV. — DÉTECTION LIMITE POUR LES PRINCIPAUX ÉLÉMENTS EN MICROGRAMMES PAR MILLILITRE.

Limites	Absorption atomique		Fluorescence atomique	Spectrométrie d'arc ou d'étincelle	Photométrie d'émission plasma
	Flamme	Four*			
10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	Ag, Ca, Cd, Mg, As**	Mg, Zn Ag, Cd, K, Mn Al, As, Au, Be, Bi, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Hg***, Ni, Pb, Sr	Ca Ag, Cd, Na, Zn Al, Cu, Gz, Hg, In, Li, Mg, Mn, Sr	Ca, Li, Na Sr	Mg Ba, Ca, Cu, Mn, Sr, Ti Al, B, Be, Cr, Fe, Ga, NiV, Li, Mo, Na
10 ⁻²	Au, Be, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Sr, Zn	Ba, In, Li, Mo, Sb, Se, Si, Sn, Ti	Au, Ba, Be, Bi, Co, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Ti	Al, Ba, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Mg, Mn, Rb	Ag, Cd, Co, Pb, Si, Zn
10 ⁻¹	Al, As, Ba, Bi, Cs, Ga, Ge, In, Mo, Pt, Sb, Se, Si, Sn, Ti, Te, V	Ti, V	As, Ge, Mo, Sb, Se, Sn, V	Ag, Be, Co, Mo, Ti, V	As, Au, Bi, In, P, Pt
1	Hg		Si	Ge, Ni, Pb, Sn	Sb

* Les valeurs données pour la spectrophotométrie par absorption atomique avec four correspondent à des quantités limites et non à des concentrations.
** Après formation d'hydrure.
*** Vapeur froide.

La méthode permet de détecter des concentrations de l'ordre de quelques p.p.b. L'apparition de sources d'excitation laser à longueurs d'onde variables permet d'améliorer encore la sensibilité; mais les appareils utilisant ces sources sont encore peu répandus.

● **Caractéristiques de la méthode.** — **Sensibilité :** le moyen le plus habituel de la définir est la *limite de détection* qui est la concentration du métal en microgrammes par millilitre ou parties par million (p.p.m.) qui produit une absorption (ou une émission) égale au double de la grandeur de fluctuation ou « bruit de fond » de l'appareil. On peut l'exprimer également en 10^{-3} p.p.m. ou p.p.b. (partie par milliard).

Spécificité : Elle est très bonne en théorie et même en pratique, toutefois il existe des interférences spectrales gênantes. Elles sont dues non pas à des coïncidences de raies, rarissimes, mais à l'absorption par des molécules présentes dans la flamme. Un réglage de la flamme ou le passage à une méthode sans flamme permet de les éviter.

Elle dépend aussi de l'élimination des interférences chimiques d'excitation ou d'ionisation, au moyen d'un réglage approprié de la flamme et de l'addition de sels convenables : chlorure de lanthane, sels alcalins.

Il faut également tenir compte des interférences « de matrice » qui sont relatives aux caractéristiques physiques et chimiques de la solution : composition, concentration, viscosité, tension superficielle. L'importance de ces interférences est diminuée en opérant par rapport à des solutions étalons de composition aussi voisine que possible de celle de la solution à doser. Dans de bonnes conditions, la reproductibilité est à 1 à 2 % près.

● **Champ d'application.** — Un élément est dosable par absorption ou fluorescence si sa raie de résonance ou une autre raie suffisamment intense présente une longueur d'onde comprise entre les limites accessibles aux mesures. Ces limites sont déterminées par le fait qu'en deçà de la limite inférieure (ultraviolet lointain) et au-delà de la limite supérieure (infrarouge) les radiations sont absorbées par la flamme. Actuellement les limites sont 193,7 nm, qui correspond à la raie de résonance de l'arsenic, et 852,1 nm, raie de résonance du césium.

Quant aux éléments qui ne sont pas dosables directement : soufre, phosphore, halogènes, oxygène, azote, il est possible éventuellement de les doser en formant des composés insolubles avec des sels de métaux susceptibles d'être détectés par la méthode.

● **Utilisation des chélates.** — Elle entraîne l'augmentation de la sensibilité en extrayant le métal et donc en le concentrant. Dans ce but on utilise la dithizone mais surtout les dithiocarbamates et notamment le pyrrolidinedithiocarbamate de sodium. Elle permet également de doser les molécules organiques susceptibles de former ces chélates et donc d'étendre la méthode à un domaine qui semblait lui être tout à fait étranger (v. Tome II p. 49).

CHAPITRE III

GÉNÉRALITÉS SUR LES SPECTRES MOLÉCULAIRES

Ce sont des spectres dont les raies sont groupées, et le plus souvent suffisamment rapprochées pour que, à l'observation, elles paraissent confondues et forment des bandes plus ou moins larges.

L'étude de ces spectres de bandes a été réalisée historiquement par Deslandres. Il a établi des lois expérimentales, qui, parallèlement au cas des spectres de raies, ont permis de parvenir à la théorie quantique.

L'origine d'une raie, appartenant à une bande, est ici encore expliquée par la transition entre deux niveaux d'énergie. Hormis le cas cité précédemment, de la photométrie de flamme (par émission) de très petites molécules minérales, les spectres moléculaires sont toujours obtenus par absorption. Afin d'étudier les transitions spectrales possibles, il convient de préciser les moyens pour une molécule d'emmagasiner de l'énergie.

ÉNERGIE D'UNE MOLÉCULE

Bien que le plus souvent les molécules qui sont étudiées par des méthodes spectrales, se trouvent sous forme liquide ou même solide, c'est-à-dire dans des états condensés de la matière, il est plus facile de raisonner tout d'abord sur une molécule indépendante et donc à l'état gazeux.

A cet état en effet, chaque molécule possède un libre parcours moyen important, et peut donc se mouvoir dans l'espace sur une distance relativement grande sans heurt, c'est-à-dire sans échange d'énergie. Il est donc possible de parler alors de l'énergie d'une molécule isolée.

Comme pour un objet à l'échelle macroscopique, il s'agit d'une énergie cinétique due aux divers mouvements qui peuvent correspondre à :

- la translation
- la rotation autour du centre de gravité de la molécule
- la vibration, les uns par rapport aux autres, des atomes dont l'association constitue cette molécule.

Mais, en plus de cette énergie, il faut considérer une énergie électronique qui dépend de la répartition des électrons au sein de la molécule, et qui peut prendre plusieurs valeurs, comme dans le cas de l'atome isolé. L'étude de ces différents types d'énergie est effectuée ici dans un cas simple, celui d'une molécule triatomique, telle que l'eau.

Énergie de translation

Elle résulte du mouvement de la particule; sa valeur est déterminée grâce à la théorie cinétique des gaz, en fonction de la valeur de la vitesse. Celle-ci, tout comme la trajectoire elle-même, peut être définie par rapport à un trièdre de référence. On obtient ainsi, par projection du vecteur vitesse sur les trois axes Ox , Oy , Oz , correspondant aux trois directions de l'espace, trois composantes dont la somme vectorielle est le vecteur vitesse réel. La connaissance de ces trois vecteurs permet donc de déterminer l'énergie cinétique de la particule, puisque celle-ci est liée à la vitesse. La molécule, comme tout objet en mouvement, est susceptible de se déplacer selon une trajectoire qui peut être décomposée vectoriellement selon les trois directions de l'espace. Ce fait conduit à envisager qu'elle est *libre* de se déplacer dans ces trois directions, c'est-à-dire qu'elle possède 3 degrés de liberté pour ce mouvement de translation (fig. 13).

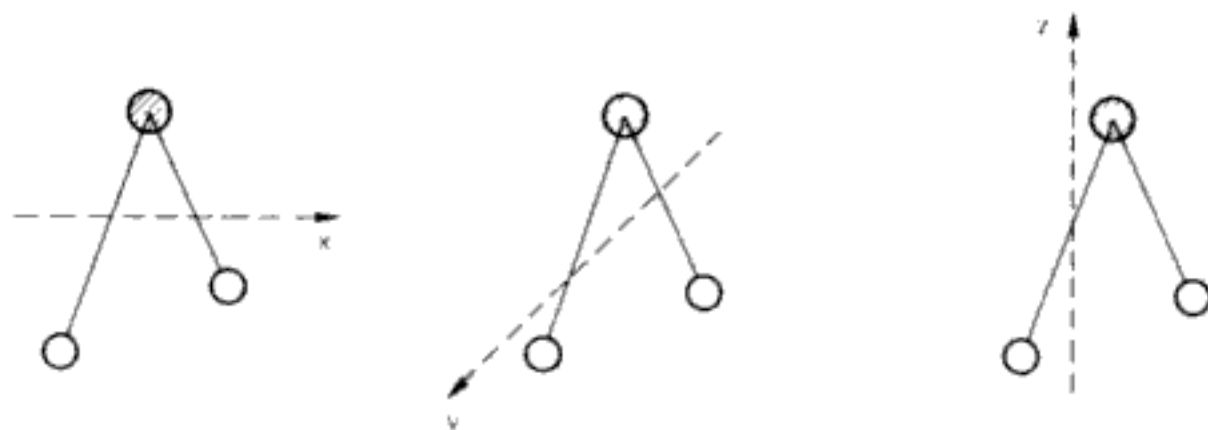


FIG. 13.

Énergie de rotation

La molécule peut emmagasiner de l'énergie par un mouvement de rotation sur elle-même. Ici encore, il y a possibilité d'obtenir un mouvement de rotation, autour de chacun des trois axes du trièdre de référence, passant par le centre de gravité. Il y a donc trois degrés de liberté de rotation comme le montre la figure 14.

Il existe cependant un cas particulier, qui correspond à des molécules linéaires dont tous les atomes sont alignés. La rotation est alors comparable à celle d'une tige et le mouvement qui correspond à la rotation autour de l'axe de la molécule nécessite une énergie négligeable par rapport aux autres.



FIG. 14.

Il ne reste donc que deux possibilités de rotation, selon les 2 axes perpendiculaires à la molécule : ceci limite à 2 le nombre de degrés de liberté de rotation dans ce cas. C'est par exemple, celui de la molécule d'anhydride carbonique (fig. 15) mais aussi de toutes les molécules diatomiques.



FIG. 15.

● **Absorption d'une radiation lumineuse par une molécule en rotation.** — Il a déjà été indiqué que, pour qu'il y ait absorption dans ce cas, il est nécessaire que les pôles positif et négatif, de la molécule, résultant de la présence de charges partielles, ne soient *pas géométriquement confondus*. Il en résulte que, pour qu'une molécule absorbe ainsi de l'énergie, il faut qu'elle soit dissymétrique. Dans le cas de molécules biatomiques, l'oxygène O_2 , l'azote N_2 ou le chlore Cl_2 par exemple, ne sont pas susceptibles d'absorber; par contre, le monoxyde d'azote NO , le monoxyde de carbone CO ou le chlorure d'hydrogène HCl , peuvent capter de cette façon un photon. De même, la molécule d'eau, dans laquelle les 2 pôles positif et négatif sont différenciés peut capter de l'énergie.

Énergie de vibration

Contrairement aux deux précédents mouvements, qui nécessitent un volume libre suffisant, pour se réaliser sans choc et sans frottement, les mouvements de vibration peuvent exister, même lorsque les molécules sont rapprochées, c'est-à-dire à l'état liquide ou solide. Pour concevoir ces mouvements, on peut représenter une molécule en assimilant les atomes qui la composent à des masses ponctuelles et les liaisons qu'ils forment entre eux, à des ressorts. En effet, dans la molécule, les liaisons, formées par les électrons, n'ont aucune

raison d'être strictement rigides. Elles présentent une certaine flexibilité, et sont donc capables de vibrer.

● **Nombre de vibrations normales.** — Comme dans le cas de la translation et de la rotation, on peut déterminer le nombre de degrés de vibration pour une molécule donnée. C'est ce que l'on appelle habituellement le nombre de vibrations normales. Pour le calculer dans le cas d'une molécule constituée d'un nombre n d'atomes, il convient tout d'abord d'envisager ces n atomes isolés, donc indépendants. Chacun d'eux ne peut ainsi subir qu'un mouvement de translation et donc, d'après ce qui a été vu précédemment, possède 3 degrés de liberté. Pour l'ensemble des n atomes, il y a donc $3n$ degrés de liberté.

Si ces atomes se rapprochent progressivement les uns des autres, jusqu'à établir des liaisons pour former une molécule, le nombre de degrés de liberté n'a pas changé et reste toujours égal à $3n$. Par contre, il n'est plus possible d'en attribuer 3 à chaque atome, car ces atomes sont devenus interdépendants, et pour la molécule entière, il faut attribuer 3 degrés de liberté aux mouvements de translation et 3 autres (ou 2 si la molécule est linéaire) aux mouvements de rotation.

La différence soit $3n - 6$ (ou $3n - 5$ si la molécule est linéaire) donne le nombre de degrés de liberté correspondant aux mouvements de vibration, c'est-à-dire le nombre de vibrations normales.

● **Caractères des vibrations normales.**

Vibrations symétriques et asymétriques. — Les vibrations normales respectent la symétrie de la molécule, mais elles ne sont dites *symétriques* que si tous les éléments de symétrie de la molécule sont également des éléments de symétrie pour la vibration. Si au moins l'un des éléments de symétrie de la molécule, ne l'est plus pour la vibration, celle-ci est dite antisymétrique ou asymétrique.

Dans le cas simple d'une molécule triatomique, les trois atomes déterminent un plan P_1 , qui les contient, et est donc un élément de symétrie. La droite D bissectrice de l'angle formé par les deux liaisons, et le plan P_2 perpendiculaire à P_1 et passant par D sont eux aussi des éléments de symétrie de la molécule (fig. 16).

Le nombre de vibrations normales possibles est de $9 - 6 = 3$. Celles-ci sont décrites dans la figure 17, où l'on se place dans le plan P_1 .

Il est aisé de constater que, si pour les vibrations I et III non seulement le plan P_1 de la molécule, mais l'axe D et le plan P_2 sont des éléments de symétrie, il n'en est pas de même pour la vibration II, qui est donc asymétrique, alors que les deux autres sont symétriques.

Si l'on essaie d'imaginer d'autres mouvements pour cette molécule triatomique, on constate qu'ils correspondent soit à une rotation, soit à une translation, mais absolument pas à une vibration. Il n'y a donc dans ce cas que trois mouvements pour lesquels la somme des produits du déplacement par la masse de chacun des atomes est nulle. C'est ce qui est exprimé en indiquant que les *vibrations normales sont orthogonales*.

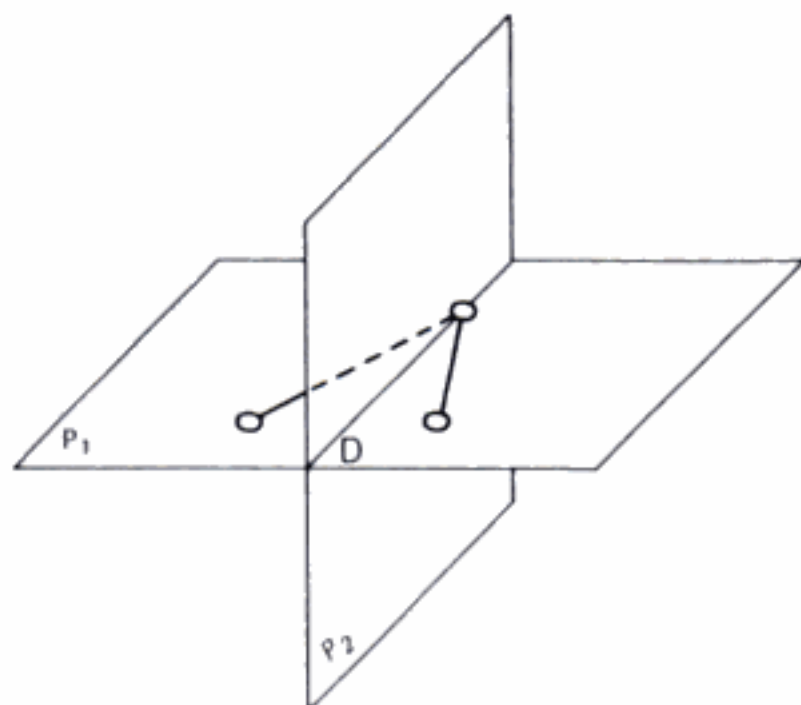


FIG. 16.

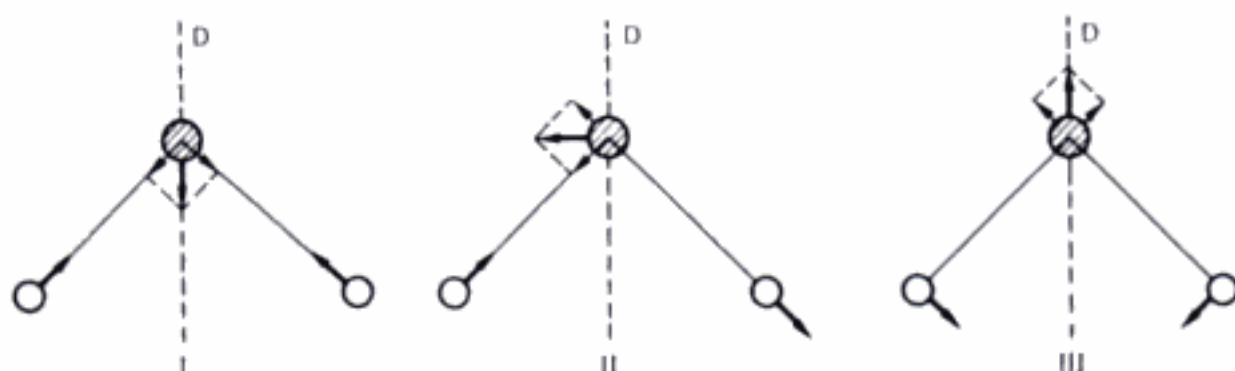


FIG. 17. — Vibrations normales d'une molécule triatomique (pour l'atome central, les mouvements respectant la symétrie sont tracés en pointillés, la résultante des forces est tracée en trait plein).

REMARQUE : dans le cas où la molécule triatomique est linéaire, le nombre de vibrations normales est de $9 - 5 = 4$. On retrouve les trois types indiqués précédemment, mais dans le troisième cas il y a deux vibrations puisque l'une peut avoir lieu dans le plan P_1 et l'autre dans le plan perpendiculaire P_2 (fig. 18).

Vibrations de valence et de déformation. — L'observation des mouvements de vibration dans les figures 17 et 18 montre que dans les cas I et II, le mouvement des atomes a lieu le long de l'axe de liaison idéal qui les relie, d'où le nom de *vibration de valence* qui est donné à ce type (en anglais stretching).

Au contraire, dans les cas III et IV, les atomes se déplacent à peu près perpendiculairement à la liaison de valence. Il en résulte que l'angle des deux liaisons n'est plus constant, et que la molécule se déforme. Ce sont donc des *vibrations de déformation* (en anglais bending).

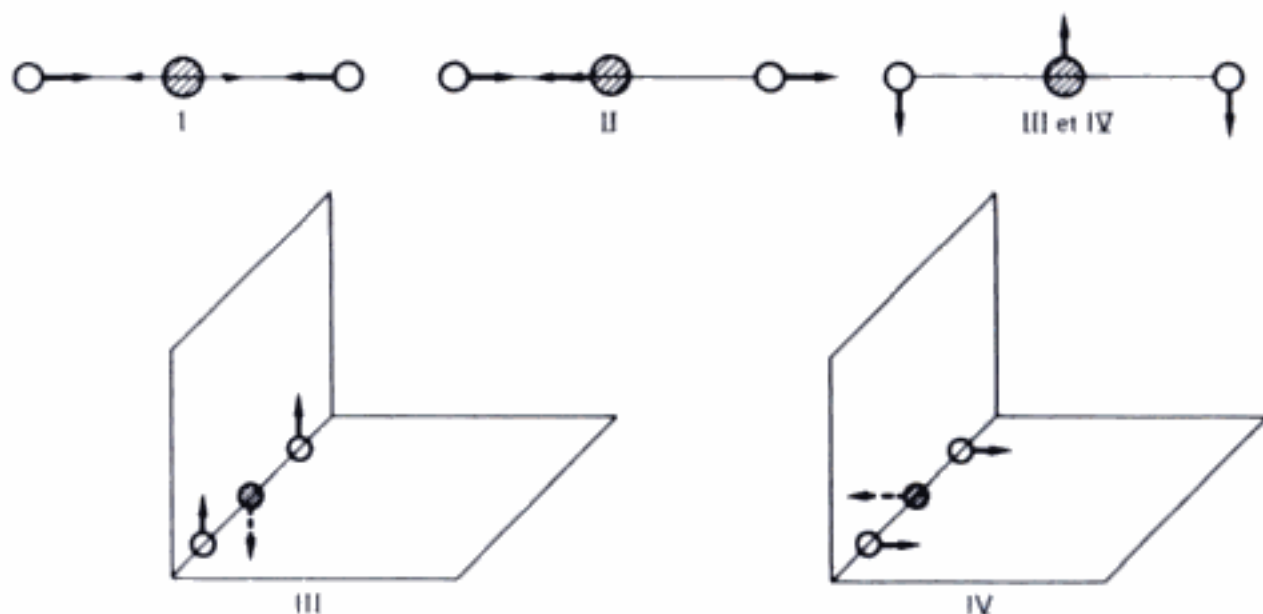


FIG. 18.

Dans le cas précis, elles portent le nom de vibration de cisaillement. Plus généralement, lorsqu'il y a plus de trois atomes dans la molécule, ces atomes ne sont pas forcément dans un plan donné. On distingue donc les *vibrations* qui se produisent *dans le plan* de la molécule, ou si celle-ci n'est pas plane, dans le plan formé par les atomes intéressés par la vibration, et celles qui se produisent *hors du plan* ainsi défini.

VIBRATIONS DE DÉFORMATION DANS LE PLAN. — Outre la *vibration de cisaillement* déjà signalée, il existe une autre vibration dans le plan, qui dans le cas d'une molécule triatomique correspondrait à une rotation, c'est la *vibration de rotation plane* (en anglais *rocking*).

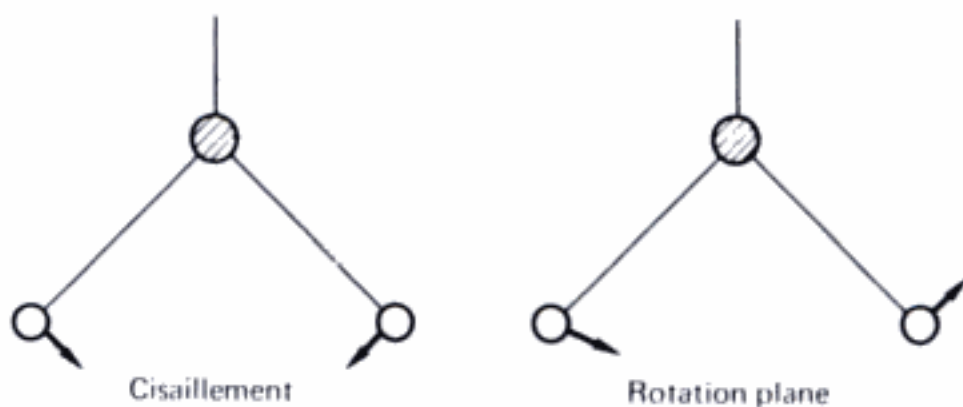


FIG. 19.

VIBRATION DE DÉFORMATION HORS DU PLAN. — L'atome central étant sensiblement fixe, si les deux atomes périphériques se déplacent en même temps au-dessus, puis au-dessous du plan, le mouvement est dit de *balancement* (*wagging*). Au contraire, si l'un des atomes périphériques se déplace au-dessus du plan, pendant que l'autre passe au-dessous, le mouvement obtenu correspond à une *torsion* (*twisting*).



FIG. 20. — Vibrations hors du plan d'un groupement de 3 atomes, le signe + indique le mouvement vers l'avant (au-dessus du plan), le signe - indique un mouvement vers l'arrière (au-dessous du plan).

Lorsqu'un nombre plus grand d'atomes sont en jeu, par exemple, un atome central et trois périphériques (groupement $-\text{CCl}_3$) on observe des vibrations de valence symétrique et asymétrique, mais aussi des vibrations de déformation symétrique et asymétrique : figure 21.

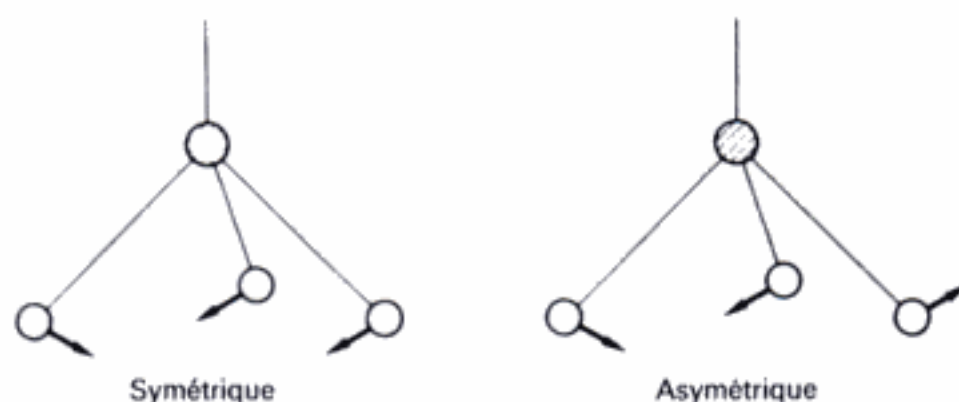


FIG. 21. — Vibrations de déformation de $-\text{CX}_3$.

● **Absorption d'une radiation lumineuse par une molécule en vibration.** — Lorsqu'une molécule vibre, les distances interatomiques varient, et il en résulte une modification :

- de la position des pôles positif et négatif,
- de la charge électrique résultante portée par chacun de ces pôles, qui peut éventuellement varier en fonction de la position étirée ou comprimée de la molécule. Le moment électrique dipolaire de la molécule est donc variable. Si ces variations sont en phase avec celles du champ électrique oscillant de la radiation, il y a absorption d'énergie. Dans le cas le plus simple d'une molécule biatomique, il est donc nécessaire, comme pour l'absorption d'énergie par rotation, que la molécule soit dissymétrique pour absorber. Dans le cas plus général de molécules polyatomiques, il faut considérer deux possibilités, selon qu'elles présentent ou non un centre de symétrie.

Molécules ne présentant pas de centre de symétrie. — Toutes les vibrations normales sont en principe actives, puisqu'il y a variation du moment dipolaire, comme le montre dans la figure 22 la différence des distances entre pôles électriques d_c et d_e .

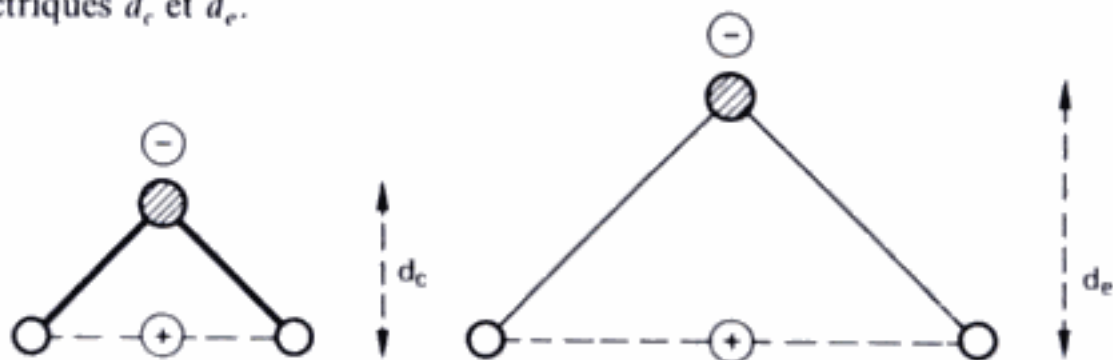


FIG. 22.

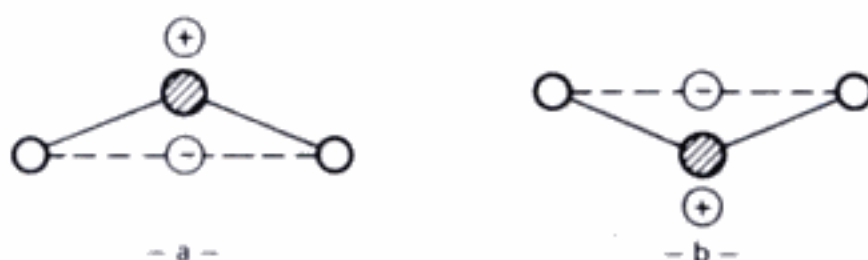
Molécules présentant un centre de symétrie. — Dans toute vibration symétrique par rapport à ce centre, le moment dipolaire est constamment nul, puisque les pôles positif et négatif sont confondus (fig. 23). Il n'y a donc pas de possibilité d'absorption de la radiation.

FIG. 23. — *Vibration symétrique.*

Au contraire, dans les vibrations antisymétriques par rapport au centre de symétrie, si à l'équilibre les 2 pôles sont confondus il n'en est plus de même dans les autres cas. Les mouvements correspondant aux schémas II, III et IV de la figure 18 entraînent les positions indiquées dans la figure 24, où les pôles électriques sont distincts et se trouvent dans des situations diamétralement



Vibration antisymétrique de valence



Vibration antisymétrique de déformation

FIG. 24. — *Vibrations antisymétriques.*

opposées selon les temps considérés (a et b). Un moment dipolaire existe donc dans la molécule; même s'il est susceptible de s'annuler temporairement, il peut s'inverser, et donc subir des variations susceptibles de rendre compte de l'absorption.

Énergie électronique

L'étude des trois types d'énergie moléculaire qui a été faite précédemment, est fondée sur des analogies avec un objet macroscopique et ignore la structure réelle de la molécule, faite d'atomes et donc de noyaux et d'électrons. Il y a lieu de considérer une quatrième forme d'énergie qui correspond à la répartition des électrons et à ses variations. L'étude de cette énergie est assez analogue à celle qui est faite dans le cas des atomes. En effet, la nature corpusculaire de l'électron n'est pas aussi affirmée que celle d'un noyau (et donc de l'atome entier), et il n'est pas possible de raisonner en utilisant la notion de degré de liberté d'un électron. Le calcul de cette énergie est donc de ce fait beaucoup plus difficile.

QUANTIFICATION DE L'ÉNERGIE MOLÉCULAIRE

Comme dans le cas de l'atome isolé, et contrairement aux phénomènes qui se produisent à notre échelle, les variations de l'énergie de la molécule ne sont pas quelconques et continues. Il est nécessaire de faire intervenir des restrictions quantiques, qui indiquent que l'énergie moléculaire ne peut présenter qu'une suite discontinue de niveaux, tels que :

$$\Delta E = h\nu = E_2 - E_1$$

et donc

$$\nu' = \frac{\nu}{c} = \frac{E_2}{hc} - \frac{E_1}{hc}$$

$\frac{E_1}{hc}$ est appelé, ici encore, terme spectral.

Limitation des restrictions quantiques

Il n'y a pas de solution de continuité entre l'échelle moléculaire et l'échelle macroscopique; les restrictions quantiques sont d'autant moins importantes que le volume dans lequel se meut la particule (molécule, atome, noyau ou électron), est plus grand. Autrement dit, dans l'échelle des énergies, les niveaux permis sont plus nombreux, et les différences entre eux diminuent, quand la position de la particule est moins bien déterminée par suite d'une plus grande liberté de mouvement. Ceci est vrai dans le cas de l'énergie électronique, où

la conjugaison de doubles liaisons par exemple, en permettant aux électrons π de se déplacer dans un volume relativement grand à l'intérieur de la molécule, entraîne la diminution des écarts entre niveaux énergétiques. De même la position des atomes qui compose la molécule étant maintenue dans des limites assez strictes, l'énergie de vibration est quantifiée. Quant aux mouvements de la molécule toute entière, il y a une différence très nette entre la rotation, qui nécessite pour se produire un volume relativement petit de l'ordre de celui de la particule elle-même, et la translation; celle-ci fait intervenir des volumes beaucoup plus importants, qui se rapprochent de l'échelle macroscopique. Il en résulte que l'énergie de rotation est quantifiée, alors que l'énergie de translation ne l'est pas. Ainsi, seuls les mouvements de rotation et de vibration, et les déplacements électroniques sont quantifiés. Or ce sont les restrictions quantiques qui sont, au niveau moléculaire comme au niveau atomique, à l'origine de la production de raies spectrales. Donc dans l'étude des spectres moléculaires, seule est considérée, l'énergie totale quantifiée :

$$\text{où} \quad E = E_{et} + E_v + E_r$$

E_{et} est l'énergie atomique

E_v est l'énergie de vibration

E_r est l'énergie de rotation.

La méthode la plus rationnelle, pour relier les énergies permises aux propriétés moléculaires, est fondée sur l'équation de Schrödinger. Cependant, il a été indiqué ci-dessus que l'on passe de l'échelle moléculaire à l'échelle macroscopique d'une façon continue. Il est donc possible de déterminer des relations entre la structure et l'énergie, à l'aide de la mécanique classique, puis d'introduire ensuite, comme en surimpression, les restrictions quantiques.

Approximation de la séparation de l'énergie de Born-Oppenheimer

Les dimensions et la masse des noyaux sont beaucoup plus importantes que celle des électrons. Les mouvements intéressant les noyaux (et donc les atomes) sont ainsi beaucoup plus lents, en raison d'une inertie plus grande, que ceux des électrons. Or les photons absorbables portent d'autant plus d'énergie, que la fréquence de la radiation est grande ($E = h\nu$), et si les mouvements des électrons, en raison de la faible masse de ceux-ci, peuvent être rapides, et donc en phase avec une radiation de fréquence élevée, il n'en est plus de même pour les mouvements des atomes entiers : vibration et rotation.

L'énergie électronique est donc de beaucoup supérieure aux autres types d'énergie. Quant à la comparaison des énergies de vibration et de rotation, il suffit de raisonner à l'échelle macroscopique pour concevoir qu'il est plus facile de faire tourner un objet (rotation) que de l'étirer ou le tordre (vibration). L'énergie de vibration est donc grande par rapport à l'énergie de rotation. En partant de ces constatations, on peut envisager, en raison de ces grandes différences de valeurs, que l'on puisse étudier séparément l'énergie de rotation

seule, puisqu'elle est la plus faible, puis l'énergie de vibration, et enfin l'énergie électronique, en négligeant en première approximation les énergies très inférieures. C'est la méthode de l'approximation de la séparation de l'énergie.

Niveau énergétique d'une molécule

En corollaire de cette différence considérable de valeur des énergies, on peut indiquer que les variations d'énergie ne sont pas non plus, du même ordre pour chaque type et donc, que la distance qui sépare deux niveaux énergétiques consécutifs est très variable. Pour l'énergie électronique, les niveaux sont très éloignés; pour l'énergie de vibration, ils le sont beaucoup moins, de telle sorte que l'on peut observer de nombreux niveaux énergétiques de vibration à l'intérieur d'un intervalle d'énergie électronique.

De même, les niveaux d'énergie de rotation sont encore beaucoup plus rapprochés que ceux de vibration, si bien qu'ici encore, un grand nombre de niveaux d'énergie rotationnelle existent à l'intérieur d'un seul intervalle entre deux niveaux de vibration (fig. 25).

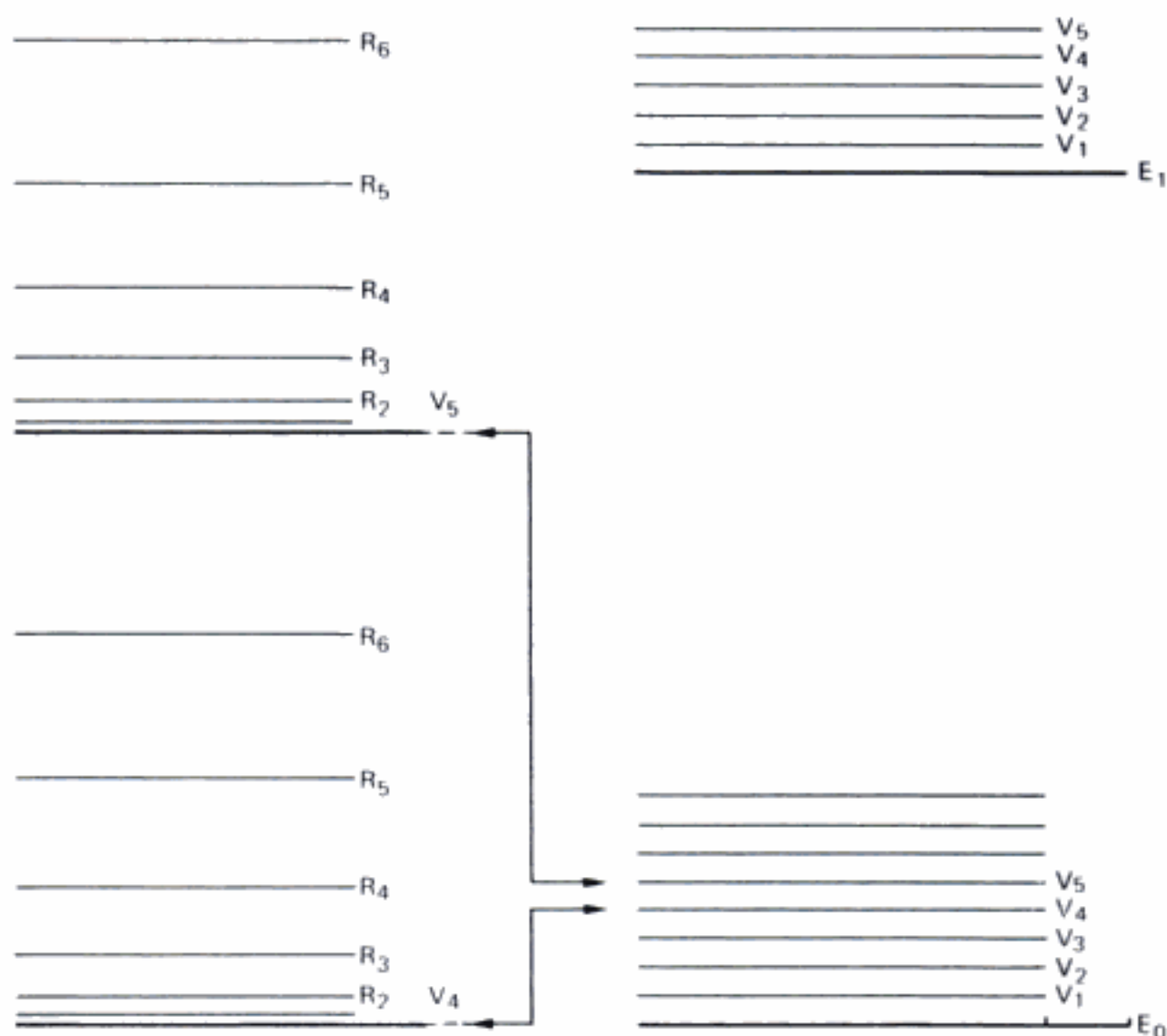


FIG. 25. — Niveaux énergétiques théoriques d'une molécule. E_0 , E_1 : énergie électronique, V_1 , V_2 , V_3 : énergie de vibration, R_1 , R_2 : énergie de rotation.

La conséquence immédiate de ces différences de distance entre niveaux énergétiques, est qu'une variation de l'énergie de rotation peut être observée seule, sans variation des autres types d'énergie. De même une variation d'énergie de vibration peut être observée sans modification parallèle de l'énergie électronique, mais par contre, elle est pratiquement toujours accompagnée d'une variation de l'énergie de rotation.

Enfin, il n'y a pratiquement jamais de variation de l'énergie électronique, qui n'entraîne pas une modification concomitante des énergies de vibration et de rotation.

Ce fait entraîne la constatation d'une différence importante entre les spectres atomique et moléculaire, bien que, dans les deux cas, l'absorption (ou l'émission) d'un photon $h\nu$ conduise à l'observation d'une raie.

En effet, en considérant par exemple, une transition électronique donnée, si un grand nombre d'atomes participent à cette transition, ils absorbent ou émettent tous la même quantité d'énergie. Il n'apparaît donc qu'une seule raie au niveau du spectre.

En revanche, si la transition électronique intéresse une molécule, la variation concomitante des énergies de vibration et de rotation entraîne la possibilité de nombreuses transitions, correspondant chacune à une raie du spectre. Chaque molécule absorbe bien un photon déterminé en produisant une raie, mais plusieurs molécules n'absorbent pas nécessairement le même quantum. Il apparaît donc plusieurs raies de fréquences (ou de longueurs d'onde) différentes dont l'ensemble forme une bande.

DIFFÉRENTS SPECTRES MOLÉCULAIRES

Les variations d'énergie d'une molécule sont proportionnelles à la fréquence de la radiation absorbée. Les plus faibles variations énergétiques mettent en jeu des radiations de fréquence, et donc de nombre d'ondes, petits. Les longueurs d'onde sont donc grandes, et les radiations qui interviennent correspondent aux plus grandes longueurs d'onde du domaine de l'infrarouge ou, ce qui revient au même, aux plus petites du domaine des ondes radio. Les spectres de rotation pure sont ainsi appelés *spectres de micro-ondes*. Le terme de *spectres infrarouges* est classiquement réservé aux spectres intéressant l'énergie de vibration et accessoirement celle de rotation, c'est la raison pour laquelle de tels spectres sont également nommés *spectres de vibration-rotation*.

Enfin la variation de l'énergie électronique fait intervenir des énergies importantes et correspond donc à des nombres d'ondes très grands et à des longueurs d'onde faibles. Elle produit ainsi les *spectres visibles et ultraviolets* qui ne diffèrent que par un caractère physiologique et donc subjectif. C'est la raison pour laquelle ils sont presque toujours regroupés, et souvent nommés *spectres électroniques*.

CHAPITRE IV

SPECTRES DE MICRO-ONDES

Les spectres les plus couramment utilisés en analyse fonctionnelle sont les spectres infrarouges, qui correspondent à la variation simultanée des énergies de vibration et de rotation, dans laquelle la première est prépondérante. Il est néanmoins utile de connaître les modifications énergétiques dues à la rotation pure, à la fois pour l'étude ultérieure des spectres infrarouges et pour leur intérêt propre. En effet l'analyse des spectres de rotation permet d'accéder aux dimensions moléculaires dont la détermination est très importante : ainsi pour rester dans le domaine pharmaceutique, il est d'un intérêt considérable de connaître ces distances interatomiques au niveau de l'étude des relations entre structure chimique et activité pharmacodynamique.

ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ÉNERGIE DE ROTATION

La molécule tourne autour d'un axe passant par son centre de gravité. Pour faciliter le raisonnement, c'est le cas le plus simple d'une molécule biatomique qui est envisagé; l'axe de rotation est ainsi perpendiculaire à la liaison entre les deux atomes. L'étude quantitative a pour but d'établir les valeurs permises de l'énergie de la molécule. Dans ce type de mouvement, cette énergie existe uniquement sous forme cinétique soit :

$$E = 1/2 mv^2$$

Constater qu'il n'y a que certaines valeurs de l'énergie qui répondent à la quantification, équivaut à considérer que seules certaines vitesses de rotation sont permises. En fait, c'est le *moment cinétique de rotation* appelé aussi *moment de quantité de mouvement* qui est soumis à la quantification. Le but de l'étude est donc d'abord de calculer par la mécanique classique ce moment cinétique, puis d'en déterminer les valeurs permises en tenant compte de la mécanique quantique.

Calcul du moment cinétique de rotation

Par définition le moment cinétique de rotation correspond au produit de trois termes : la vitesse, la masse et le rayon de rotation. Pour le calculer, dans le cas d'une molécule biatomique il suffit d'appliquer les résultats de la mécanique classique aux deux masses correspondant aux 2 atomes.

● **Approximation du rotateur rigide.** — Dans l'étude des différentes valeurs de l'énergie moléculaire, qui a été faite précédemment, il a été indiqué que l'énergie de rotation est la plus faible, et n'entraîne donc pas de modification des autres types d'énergie. Il est donc logique d'appliquer la méthode de séparation de l'énergie de Born-Oppenheimer, et de supposer que la molécule ne vibre pas, c'est-à-dire que la distance interatomique ne varie pas. La molécule est ainsi assimilée à un système de deux masses reliées par une tige rigide. Les masses sont supposées ponctuelles et le système peut être schématisé selon la figure 26.

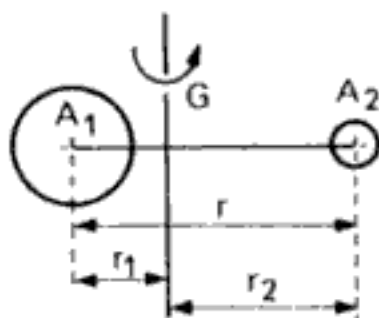


FIG. 26.

● **Masse réduite du rotateur.** — Le centre de gravité étant G, la distance A₁G à une valeur r₁, la distance A₂G une valeur r₂, et la distance A₁A₂ la valeur r. Les masses sont m₁ et m₂. Par définition même du centre de gravité :

$$m_1 r_1 = m_2 r_2 \quad (1)$$

soit

$$\frac{r_1}{m_2} = \frac{r_2}{m_1} = \frac{r_1 + r_2}{m_1 + m_2} = \frac{r}{m_1 + m_2} \quad (2)$$

Mais un tel système comportant deux masses, ne permet pas une étude mathématique aussi facile que dans le cas le plus simple d'une masse unique tournant autour d'un point fixe avec un rayon r.

Il est donc souhaitable de pouvoir assimiler le rotateur à ce système plus simple. Pour ce faire, il faut déterminer la masse qu'aurait ce dernier système, et qui est appelée *masse réduite*.

Pour calculer la masse réduite, on doit faire intervenir le rayon r de rotation, puisque le système mécanique est caractérisé par ces deux valeurs. En mécanique, une notion bien connue les fait intervenir toutes deux, c'est le moment d'inertie I. Par définition, c'est le produit de la masse par le carré du rayon de rotation. Dans le cas du rotateur rigide, le moment d'inertie total est la somme des moments correspondant à chaque masse.

Soit
$$I = m_1 r_1^2 + m_2 r_2^2 \quad (3)$$

D'après l'équation (1) on peut remplacer dans le 2^e terme $m_2 r_2$ par $m_1 r_1$

$$I = m_1 r_1^2 + m_1 r_1 r_2$$

et
$$I = m_1 r_1 (r_1 + r_2)$$

soit
$$I = m_1 r_1 r$$

En remplaçant r_1 par sa valeur calculée à partir de l'équation (2) :

$$r_1 = \frac{r m_2}{m_1 + m_2} \quad \text{on obtient} \quad I = \frac{m_1 m_2 r^2}{m_1 + m_2}$$

Le terme $\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$ a la dimension d'une masse, et correspond donc à la masse réduite cherchée, qui est classiquement symbolisée par μ ; donc :

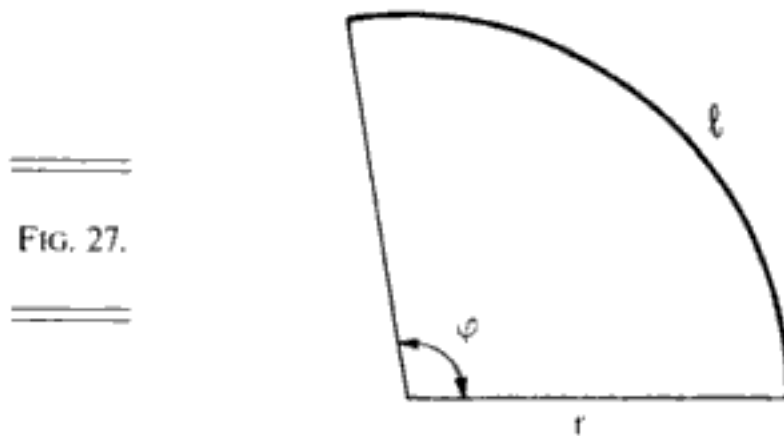
$$I = \mu r^2 \quad (4)$$

● **Moment cinétique de rotation.** — Il est maintenant possible de le déterminer dans le cas simple de la masse μ tournant autour d'un point fixe, et en faisant intervenir le moment d'inertie de ce système.

Le moment cinétique est par définition :

$$\vec{\sigma} = \mu \times v \times r$$

Or la vitesse v , dans le cas d'un mouvement de rotation, peut être exprimée en fonction de la vitesse angulaire. En effet, la longueur d'un arc de circonférence est donné par le produit du rayon par l'angle incluant l'arc exprimé en radians :



La vitesse v est constante et correspond à la distance parcourue pendant le temps t .

$$v = \frac{l}{t} = \frac{\phi r}{t}$$

Le rapport $\frac{\phi}{t}$ est la vitesse angulaire ω , donc $v = \omega r$.

Le moment cinétique devient ainsi :

$$\vec{\sigma} = \mu \omega r^2 = I \omega$$

Conditions de quantification

La quantification porte sur le moment cinétique et selon la mécanique quantique s'exprime, dans tous les cas, qu'il s'agisse du mouvement d'un électron ou d'un atome, par la condition suivante : pour une période entière de mouvement, donc ici pour une rotation complète, où l'angle φ varie de 0 à 2π , l'intégrale (dite intégrale d'action)

$$\int_0^{2\pi} \vec{\sigma} d\varphi$$

doit être égale à un nombre entier de fois la constante de Planck : h . Le nombre entier est le nombre quantique de rotation J . En réalité, une légère modification due à la mécanique ondulatoire fait remplacer ce nombre par un nombre voisin :

$$\sqrt{J(J+1)}$$

L'équation devient donc :

$$\int_0^{2\pi} \vec{\sigma} d\varphi = h \sqrt{J(J+1)}$$

Pour calculer cette intégrale, sachant que $\vec{\sigma} = I\omega$, il suffit de faire la différence entre les valeurs obtenues pour $\varphi = 0$ et $\varphi = 2\pi$. Pour $\varphi = 0$ la valeur est nulle, donc

$$2\pi I\omega = h \sqrt{J(J+1)}$$

Cette formule permet de calculer les vitesses angulaires permises :

$$\omega = \frac{h}{2\pi I} \sqrt{J(J+1)} \quad (5)$$

Calcul de l'énergie de rotation

Cette énergie est une énergie cinétique, et puisque le système est assimilé à une masse unique μ en rotation :

$$E_r = 1/2 \mu v^2$$

Cette équation peut être transformée pour faire apparaître la vitesse angulaire afin de tenir compte de la quantification. Il suffit de remplacer la vitesse par sa valeur : $v = \omega r$

$$E_r = 1/2 \mu \omega^2 r^2$$

et d'après l'équation (4)

$$E_r = 1/2 I \omega^2$$

En tenant compte de l'équation (5), exprimant les restrictions quantiques :

$$E_r = 1/2 I \left[\frac{h}{2\pi I} \sqrt{J(J+1)} \right]^2$$

soit

$$E_r = \frac{h^2}{8\pi^2 I} J(J+1) \quad (6)$$

• **Distance des niveaux énergétiques de rotation.** — Les différents niveaux d'énergie sont donc proportionnels à $J(J+1)$. Le nombre J ne pouvant prendre que des valeurs entières 1, 2, 3, 4, 5, la progression des niveaux d'énergie est donc proportionnelle à 2, 6, 12, 20, 30... *Les niveaux d'énergie de rotation ne sont donc pas équidistants.*

SPECTRES DE ROTATION PURE

Règles de sélection

Les raies de spectre correspondent à une transition, comme dans le cas des spectres atomiques, et ici encore, une règle de sélection doit être appliquée : elle exprime que seules sont possibles les transitions pour lesquelles la variation du nombre quantique de rotation est égale à l'unité, soit :

$$\Delta J = \pm 1$$

Le phénomène observé en pratique correspond à une variation positive donc à un gain d'énergie. Il correspond à *un spectre d'absorption*.

Caractéristique du spectre

Puisque les distances entre les niveaux énergétiques ne sont pas égales, à chaque transition correspond une raie différente. Il en résulte que le spectre de rotation est composé d'une bande formée de plusieurs raies.

• **Calcul du nombre d'ondes d'une raie.** — L'absorption d'un quantum d'énergie fait passer la molécule du niveau énergétique E_J au niveau E_{J+1} . Le nombre d'ondes est défini par la différence entre 2 termes spectraux :

$$\nu'_J = \frac{E_{J+1}}{hc} - \frac{E_J}{hc}$$

L'énergie E_J correspond à l'équation (6), celle de E_{J+1} a une valeur où le produit $J(J+1)$ est remplacé par $(J+1)(J+2)$ dans cette équation. Ainsi ν'_J devient :

$$\nu'_J = \frac{h^2}{8\pi^2 I} [(J+1)(J+2) - J(J+1)] \times \frac{1}{hc}$$

$$\text{d'où} \quad \nu'_J = \frac{h}{8\pi^2 I c} \times 2(J+1) = \frac{h}{4\pi^2 I c} (J+1) \quad (7)$$

Le même calcul effectué pour le nombre d'ondes correspondant à la transition de E_{J+1} à E_{J+2} , donne

$$\nu'_{J+1} = \frac{h}{4\pi^2 I c} (J+2)$$

• *Distance entre 2 raies voisines.* — Elle est exprimée par la différence entre les 2 nombres d'ondes des raies.

$$\begin{aligned} \Delta \nu' &= \nu'_{J+1} - \nu'_J \\ &= \frac{h}{4\pi^2 I c} [(J+2) - (J+1)] \\ \Delta \nu' &= \frac{h}{4\pi^2 I c} \end{aligned} \quad (8)$$

Cette différence est indépendante de la valeur du nombre quantique de rotation, elle est donc identique pour toutes les raies, si l'échelle est exprimée en nombre d'ondes.

Les raies du spectre sont équidistantes. La distance $\Delta \nu'$ est de l'ordre de 1 à 20 cm^{-1} . La valeur des nombres d'ondes ν' est donc également très petite. Ceci explique que les longueurs d'onde soient grandes, de l'ordre du millimètre, et que l'on ne puisse observer ces spectres avec des appareils infrarouges classiques.

INTÉRÊT DES SPECTRES DE MICRO-ONDES

La mesure de la distance entre 2 raies successives du spectre permet de connaître le moment d'inertie :

$$I = \frac{h}{4\pi^2 c \Delta \nu'}$$

En effet, tous les autres termes de l'équation sont des constantes. Au moyen de cette valeur du moment d'inertie, il est aisé d'accéder à la distance interatomique connaissant la masse des deux atomes :

$$r = \sqrt{\frac{I}{\mu}}$$

APPLICATIONS ANALYTIQUES

Cette méthode est encore peu répandue mais elle paraît promise à un certain avenir.

La nécessité d'opérer en phase gazeuse pour permettre des rotations libres, n'empêche pas d'étendre les applications à des molécules polyatomiques de

masse moléculaire allant jusqu'à 350 si elles sont volatilisables sous faible pression.

● *Analyse structurale.* — Il est non seulement possible de déterminer les distances interatomiques mais également les angles de valence.

L'étude de molécules possédant un ou plusieurs hydrogènes mobiles peut être réalisée par échange avec des atomes de deutérium. La comparaison des spectres des molécules deutériées ou non, permet de situer avec certitude la position du deutérium et donc celle de l'hydrogène mobile. Cette méthode est utilisable lorsque les quantités de produit à analyser sont trop faibles pour faire appel à la spectrométrie de résonance magnétique du proton.

● *Analyse quantitative.* — La méthode a été utilisée par exemple pour déterminer des traces de polluants atmosphériques ou pour étudier des produits de pyrolyse.

CHAPITRE V

SPECTRES INFRAROUGES

Les spectres classiquement étudiés, qui permettent une véritable analyse fonctionnelle des molécules organiques sont des spectres de vibration-rotation, dans lesquels l'énergie de vibration, beaucoup plus grande que celle de rotation, est prépondérante.

L'étude de ces spectres envisage tout d'abord, comme dans le cas des spectres de rotation, la connaissance quantitative de l'énergie de vibration, dans le cas le plus simple d'une molécule biatomique. Les applications pratiques, obtenues en étendant les résultats théoriques à des molécules polyatomiques, sont ensuite envisagées.

ETUDE QUANTITATIVE DE L'ÉNERGIE DE VIBRATION

Dans le cas d'une *molécule biatomique*, la vibration se produit nécessairement le long de la liaison de valence. Pour que cette vibration entraîne l'absorption d'énergie, il faut nécessairement que la molécule soit dissymétrique.

Étude du mouvement de vibration

D'après ce qui a été indiqué précédemment, lors de l'étude des vibrations normales, le centre de gravité du système est un point fixe, sinon il y aurait translation. C'est donc ce centre de gravité G , qui est pris comme centre des coordonnées du mouvement des 2 atomes A_1 et A_2 .

La distance r , qui dans l'étude de la rotation était considérée comme fixe, varie ici entre 2 valeurs extrêmes, l'une maximale $r_{\max}$, l'autre minimale $r_{\min}$ autour de la position d'équilibre r_e (fig. 28).

Le système a tendance à revenir à la position d'équilibre, car il existe une force de rappel, dirigée en sens inverse du mouvement de l'atome. Dans tous les cas, les distances r_1 et r_2 de chaque atome au centre de gravité, sont définies,

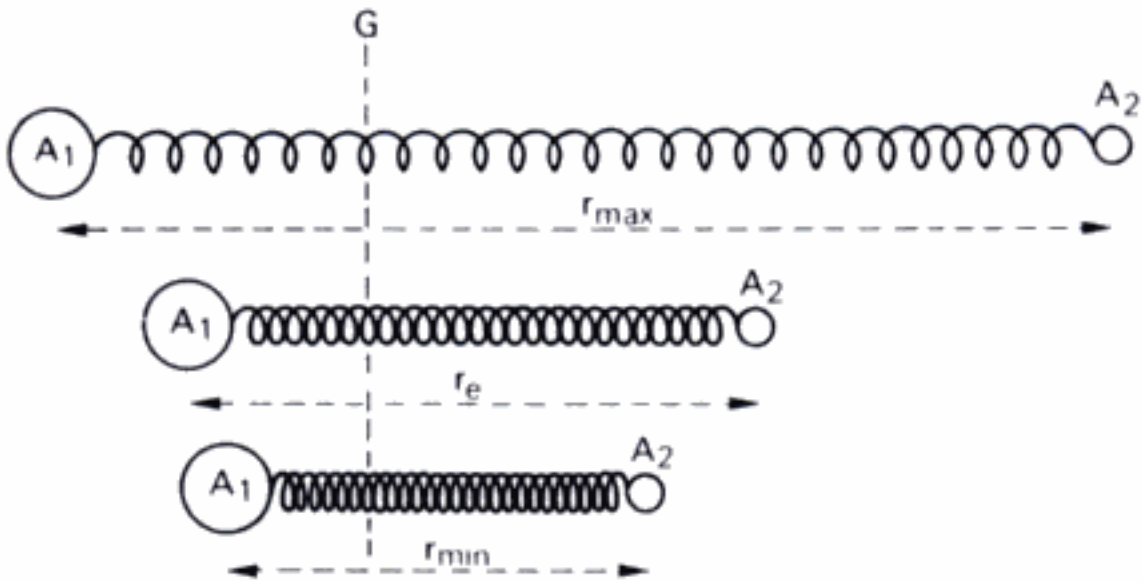


FIG. 28.

comme cela a été mentionné lors de l'étude de la rotation (voir page 64), par

$$\frac{r_1}{m_2} = \frac{r_2}{m_1} = \frac{r}{m_1 + m_2}$$

soit

$$r_1 = \frac{m_2 r}{m_1 + m_2}$$

$$r_2 = \frac{m_1 r}{m_1 + m_2}$$

Les forces agissant sur A_1 et A_2 , sont définies par le produit de la masse par l'accélération. Les expressions donnant ces accélérations sont :

$$\gamma_1 = \frac{d^2 r_1}{dt^2} \quad \text{et} \quad \gamma_2 = \frac{d^2 r_2}{dt^2}$$

On peut, dans ces expressions, calculer les dérivées en fonction non plus de r_1 et r_2 mais de leur valeur exprimée en fonction de r .

$$\gamma_1 = \frac{m_2}{m_1 + m_2} \frac{d^2 r}{dt^2}$$

$$\gamma_2 = \frac{m_1}{m_1 + m_2} \frac{d^2 r}{dt^2}$$

La force f_1 d'attraction de A_1 par A_2 est donc

$$f_1 = m_1 \gamma_1 = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \frac{d^2 r}{dt^2} \quad (9)$$

La force f_2 d'attraction de A_2 par A_1 est de même :

$$f_2 = m_2 \gamma_2 = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \frac{d^2 r}{dt^2} \quad (10)$$

Les expressions de ces 2 forces sont égales puisque le centre de gravité est immobile. Leur valeur commune est identique à celle qui ferait intervenir une seule masse réduite μ ,

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2},$$

vibrant par rapport à un point fixe à une distance r de ce point. On retrouve la même valeur μ de la masse réduite que dans le cas de la rotation.

Approximation de l'oscillation harmonique

Lorsque le mouvement de vibration est assimilé à celui d'un ressort parfaitement élastique, la force f de rappel est proportionnelle à l'écart $r - r_e$ de son élongation r avec sa position d'équilibre r_e . C'est la définition même de l'oscillateur harmonique, et l'étude théorique du mouvement est poursuivie dans ce cas.

On peut écrire :

$$f = \mu \frac{d^2 r}{dt^2} = -k(r - r_e) \quad (11)$$

Le signe négatif du deuxième membre, indique que la force est de sens opposé au mouvement.

Or

$$r = x + r_e$$

où r_e est une constante, dont par définition la dérivée est nulle, donc :

$$\frac{d^2 r}{dt^2} = \frac{d^2 x}{dt^2}$$

La résolution de l'équation différentielle $\mu \frac{d^2 x}{dt^2} = -kx$ permet d'obtenir la valeur de $x = r - r_e$.

La solution est du type :

$$x = x_0 \sin 2\pi \nu t$$

En effet la dérivation de cette équation donne

$$v_x = \frac{dx}{dt} = 2\pi \nu x_0 \cos 2\pi \nu t \quad (12)$$

puis

$$\frac{d^2 x}{dt^2} = -4\pi^2 \nu^2 x_0 \sin 2\pi \nu t$$

En remplaçant dans l'équation (12) les valeurs calculées :

$$-4\pi^2 \nu^2 x_0 \sin 2\pi \nu t = -kx_0 \sin 2\pi \nu t$$

soit

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (13)$$

ou encore

$$k = 4\pi^2 \nu^2 \mu \quad (13 \text{ bis})$$

On obtient ainsi la valeur de la fréquence des oscillations.

k est appelée *constante de force*, et est caractéristique de la molécule dont elle mesure, la force de liaison interatomique.

Expression de l'énergie de vibration

Contrairement au cas de la rotation, où l'énergie totale est égale à l'énergie cinétique, dans le cas de la vibration il faut considérer la somme de l'énergie cinétique E_c et de l'énergie potentielle E_p

$$E_v = E_c + E_p$$

Plus on s'éloigne de la position d'équilibre, et moins la vitesse, et donc l'énergie cinétique

$$E_c = 1/2 \mu v_x^2,$$

est importante, et plus l'énergie potentielle est grande.

Au contraire, plus on se rapproche de la position d'équilibre, plus l'énergie cinétique est considérable, et plus l'énergie potentielle tend à s'annuler.

L'énergie potentielle est reliée à la force f , mais elle est de signe contraire. Elle est donc dans tous les cas :

$$\begin{aligned} E_p &= - \int_0^{x_0} f \, dx \\ \text{soit} \quad E_p &= - \int_0^{x_0} -kx \, dx \\ E_p &= 1/2 kx^2 \end{aligned}$$

L'énergie de vibration est donc

$$E_v = 1/2 \mu v_x^2 + 1/2 kx^2$$

Pour éviter de faire intervenir les 2 types d'énergie, on peut se placer dans le cas de l'amplitude maximale (ou minimale). La vitesse, et donc l'énergie cinétique, sont alors nulles, et

$$E_v = 1/2 kx_0^2$$

x_0 étant l'élongation maximum : $x_0 = r_{\max} - r_e = r_e - r_{\min}$.

Or k est connue par l'équation (13 bis) :

$$\begin{aligned} k &= 4\pi^2 \nu^2 \mu \\ \text{donc} \quad E_v &= 2\pi^2 \nu^2 \mu x_0^2 \end{aligned} \quad (14)$$

Le tracé de la courbe $E_v = f(x_0)$, montre que l'énergie de vibration dépend de l'amplitude selon une équation parabolique.

Conditions de quantification

La quantification porte, comme toujours, sur la vitesse, et pour introduire ce paramètre il faut faire intervenir l'énergie cinétique.

L'intégrale d'action est dans ce cas :

$$\int_0^T \mu v_x^2 dt$$

(où v_x est la vitesse de la particule unique de masse μ). La condition, selon la mécanique quantique, est que, pour une période entière de mouvement, cette intégrale soit égale à un nombre entier de fois la constante de Planck :

$$\int_0^T \mu v_x^2 dt = \nu h$$

où ν est le nombre quantique de vibration.

En réalité, pour tenir compte de la mécanique ondulatoire, on démontre à l'aide de l'équation de Schrödinger, qu'il faut remplacer le nombre ν par $\nu + \frac{1}{2}$.

Calcul de l'énergie de vibration dans le cas d'un oscillateur harmonique

En remplaçant $v_x = \frac{dx}{dt}$ par sa valeur obtenue dans l'équation (12) il vient :

$$4\pi^2 \nu^2 x_0^2 \mu \int_0^T \cos^2 2\pi \nu t dt = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h$$

or d'après (13 bis)

$$4\pi^2 \nu^2 \mu = k.$$

l'équation devient alors :

$$k x_0^2 \int_0^T \cos^2 2\pi \nu t dt = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h$$

Sous l'intégrale, on peut remplacer le carré du cosinus par sa valeur, sachant que $\cos^2 x = \frac{1 + \cos 2x}{2}$ on obtient :

$$k x_0^2 \int_0^T \left(\frac{1 + \cos 4\pi \nu t}{2} \right) dt$$

La résolution de cette intégrale correspond à la différence des valeurs obtenues pour $t = 0$ et $t = T$, de

$$kx_0^2 \left[\frac{t}{2} + \frac{1}{8\pi\nu} \sin 4\pi\nu t \right]$$

cette différence est :

$$kx_0^2 \frac{T}{2}$$

En effet pour $t = 0$ les 2 termes s'annulent, et puisque $\nu = \frac{1}{T}$,

$$\sin 4\pi\nu T = \sin 4\pi = 0.$$

La condition de quantification s'écrit donc :

$$\frac{kx_0^2}{2} T = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h$$

or
$$\frac{kx_0^2}{2} = E_\nu \quad \text{et} \quad T = \frac{1}{\nu}$$

donc
$$E_\nu = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h\nu = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (15)$$

Cette équation montre que même à l'état de plus faible énergie où $\nu = 0$ la molécule a une énergie vibrationnelle non nulle.

● **Distance entre les niveaux énergétiques de vibration.** — Pour une variation du nombre quantique $\Delta\nu$ égale à l'unité, la différence d'énergie est :

$$\Delta E_\nu = h\nu$$

Les niveaux énergétiques permis qui correspondent à une certaine fréquence et une certaine amplitude x_0 sont donc équidistants, puisque ΔE_ν est constante. Ils sont donc représentés par des cordes horizontales équidistantes sur la parabole. $E_\nu = 1/2 kx_0^2$.

Il faut remarquer ici la différence avec les niveaux d'énergie de rotation qui ne sont pas équidistants.

Cas réel de l'oscillateur anharmonique

L'assimilation d'une molécule à un oscillateur harmonique, ne tient pas compte de la nature de la liaison chimique. En effet, lorsque les atomes s'écartent beaucoup de leur position d'équilibre, leur interaction tend à diminuer et lorsque la distance est suffisante, elle disparaît. Il n'existe plus alors que deux atomes isolés, dont l'énergie est devenue pratiquement constante.

A l'inverse, si l'on rapproche trop les 2 atomes, leurs noyaux d'une part, et

leurs couches électroniques réciproques d'autre part, tendent à se repousser, et l'énergie nécessaire pour lutter contre cette répulsion est considérable.

La conséquence de ces 2 constatations est que la courbe $E_v = f(x_0)$ n'est pas une parabole. Il faut donc trouver une autre expression mathématique pour rendre compte de la réalité. La plus habituelle est celle de Morse.

$$E_v = D(1 - e^{-\beta x_0})^2 \quad (16)$$

où β est une constante dont la valeur est

$$\beta = v \sqrt{\frac{2\pi^2\mu}{D}}$$

et D est l'énergie de dissociation.

La courbe qui traduit cette équation est appelée de Morse. Avec une telle courbe, les distances entre les niveaux énergétiques ne sont plus égales comme le montre la figure 29.

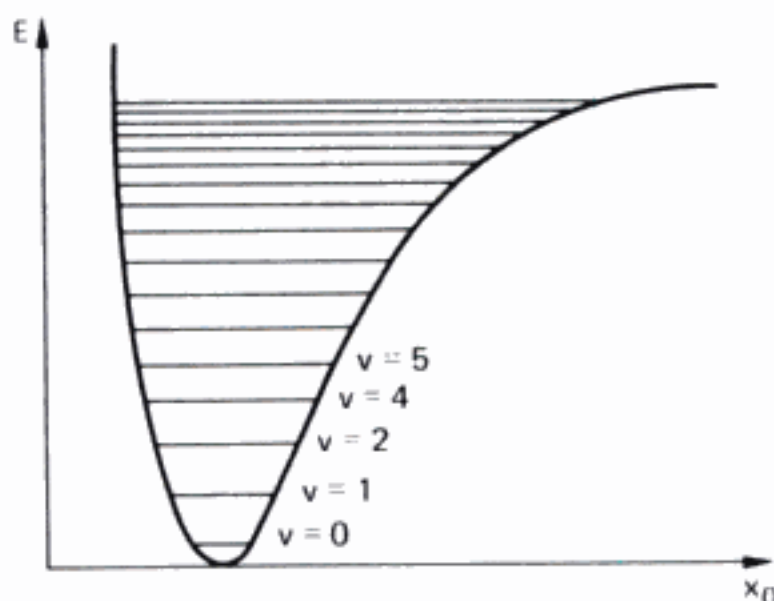


FIG. 29.

Toutefois, la comparaison avec la parabole tracée dans le cas d'un oscillateur harmonique montre qu'au voisinage du minimum, les deux courbes sont presque confondues. Pour exprimer cette tangence, la première est appelée parabole *osculatrice* à la courbe réelle (fig. 30).

Il en résulte que les niveaux énergétiques dans le cas où v est petit sont quasi-équidistants.

Au fur et à mesure que la valeur du nombre quantique de vibration augmente, il est nécessaire, pour exprimer les différents niveaux, de réaliser un développement en série de $(v + 1/2)$ et d'écrire que

$$E_v = hv[(v + 1/2) - a(v + 1/2)^2 - b(v + 1/2)^3 \dots]$$

En général, l'expérience montre que le coefficient a est déjà très petit et que, le plus souvent, on peut limiter le développement aux 2 premiers termes.

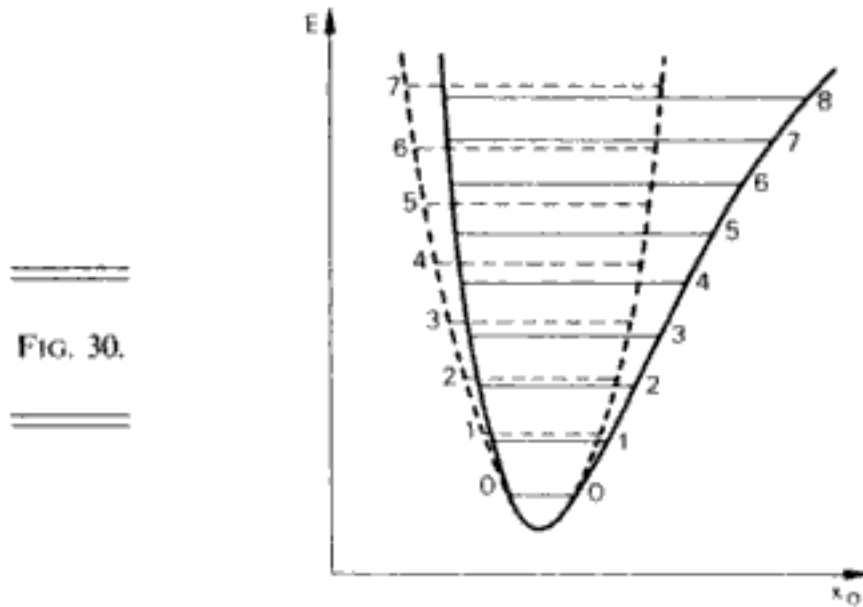


FIG. 30.

Lorsque la courbe tend vers une asymptote parallèle à l'axe des abscisses, les niveaux énergétiques arrivent à se confondre et il n'y a plus alors de possibilité d'obtenir un spectre.

REMARQUE : Il existe une répartition selon une courbe de Morse de l'énergie de vibration pour chaque niveau d'énergie électronique (v. p. 136).

SPECTRE DE VIBRATION PURE

Nombre d'ondes d'une raie

En théorie, si les restrictions quantiques sont identiques à celles déjà indiquées en rotation, la variation du nombre quantique ne peut être que d'une unité, entre les niveaux énergétiques de départ et d'arrivée, soit $\Delta v = +1$, dans le cas de l'absorption, qui est pratiquement le seul envisageable. Le nombre d'ondes d'une raie est :

$$\nu'_1 = \frac{E_{(v+1)} - E_v}{hc} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (17)$$

Donc dans le cas où l'on peut assimiler la partie inférieure de la courbe de Morse à la parabole osculatrice, on n'observe qu'une seule raie puisque les niveaux énergétiques sont équidistants. Le spectre de vibration pure présente ainsi une seule raie pour une vibration donnée et comporte donc autant de raies que de vibrations normales.

Vibrations harmoniques

En réalité, dans le cas de l'énergie de vibration, on peut observer des transitions pour lesquelles Δv est supérieur à $+1$, soit $\Delta v = +n$ dans le cas de l'absorption.

Le nombre d'ondes ν' de la raie ainsi émise sera

$$\nu'_n = \frac{E_{(v+n)} - E_v}{hc} = \frac{n}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (18)$$

Le nombre d'ondes est alors un multiple de ν'_1 . Si elles sont possibles, ces transitions sont cependant beaucoup moins probables que celles où $\Delta v = 1$. On observe donc sur le spectre des raies correspondant à $\Delta v = 2, 3, \dots$ dont l'intensité est de plus en plus faible.

Leur distance exprimée en nombre d'ondes est théoriquement la même entre ν_1 et ν_2 ou entre ν_2 et ν_3 puisque à chaque fois, elle est égale à $\frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$. En réalité, en raison de l'anharmonicité de l'oscillateur, la valeur du nombre d'ondes d'une vibration harmonique n'est pas un multiple exact de celle de la vibration correspondant à $\Delta v = 1$, comme le montre la figure 31, dans le cas de la cyclohexanone.

Pourcentage de transmission

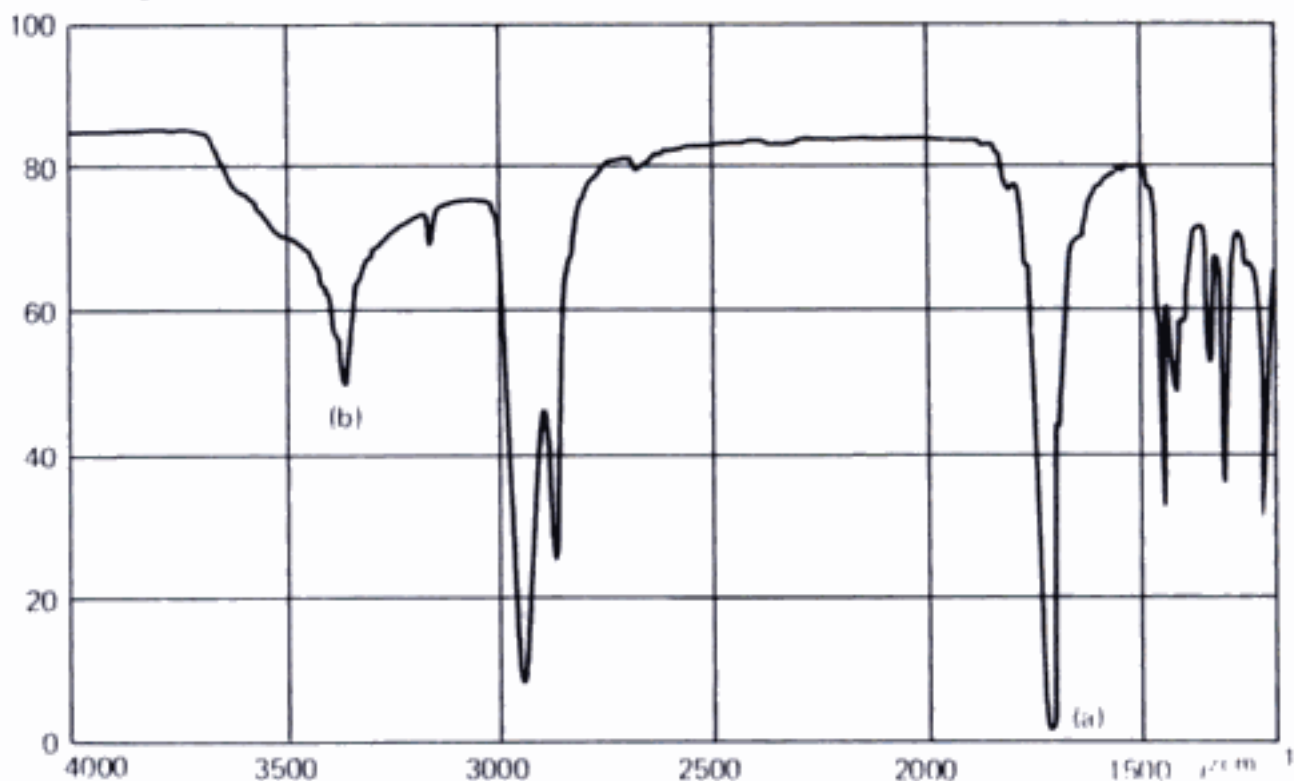


FIG. 31. — Spectre infra-rouge de la cyclohexanone entre 4000 cm^{-1} et 1200 cm^{-1} .

- a) Bande de vibration de valence du carbonyle : 1710 cm^{-1} .
- b) Bande harmonique : 3360 cm^{-1} .

ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ÉNERGIE DE VIBRATION-ROTATION

L'observation d'un spectre réel à l'état gazeux montre que l'on n'observe pas une raie très fine, mais une bande due à la juxtaposition de raies très rapprochées. En effet, en même temps que l'énergie de vibration, celle de

rotation, beaucoup plus petite varie également. Le spectre réel est donc un spectre de vibration-rotation, où chaque raie d'une bande correspond à la même transition de vibration, mais à des transitions de rotation différentes.

Pour étudier ces transitions, il faut donc envisager un oscillateur tournant et utiliser l'approximation de la séparation de l'énergie de Born Oppenheimer.

Dans ces conditions l'énergie de vibration rotation est

$$E_{v+r} = E_v + E_r$$

Dans le cas le plus habituel où la restriction quantique $\Delta v = +1$ est appliquée, on obtient :

$$E_{v+r} = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} (v + 1/2) + \frac{h^2}{8\pi^2 I} J(J + 1)$$

Sachant que le second terme correspondant à l'énergie de rotation est petit devant le premier, on a donc plusieurs niveaux de rotation dans l'intervalle qui sépare deux niveaux de vibration.

SPECTRE DE VIBRATION-ROTATION

Dans le cas de l'absorption qui est seul utilisé, on envisage

$$\Delta v = +1$$

pour le nombre quantique de vibration; mais en raison de la valeur beaucoup plus faible de l'énergie de rotation E_r , il est normal d'envisager que l'on puisse retrancher, aussi bien qu'ajouter, cette dernière valeur à l'énergie E_v , tout en conservant pour l'énergie totale E_{v+r} une valeur positive. Il y a donc lieu de considérer que la variation du nombre quantique de rotation J peut être positive ou négative, donc que :

$$\Delta J = \pm 1 \quad (\text{fig. 32})$$

On observe des raies correspondant aux transitions :

$$\begin{array}{ll} \Delta v = +1 & \Delta J = +1 \\ \Delta v = +1 & \Delta J = -1 \end{array}$$

Par contre, la transition correspondant à la vibration pure, c'est-à-dire $\Delta v = +1$ et $\Delta J = 0$ n'existe pas : c'est donc une « raie interdite ».

Nombre d'ondes d'une raie

Les nombres quantiques, quels qu'ils soient, et en particulier le nombre quantique de rotation, doivent être positifs ou à la limite nuls, mais ne sont jamais négatifs.

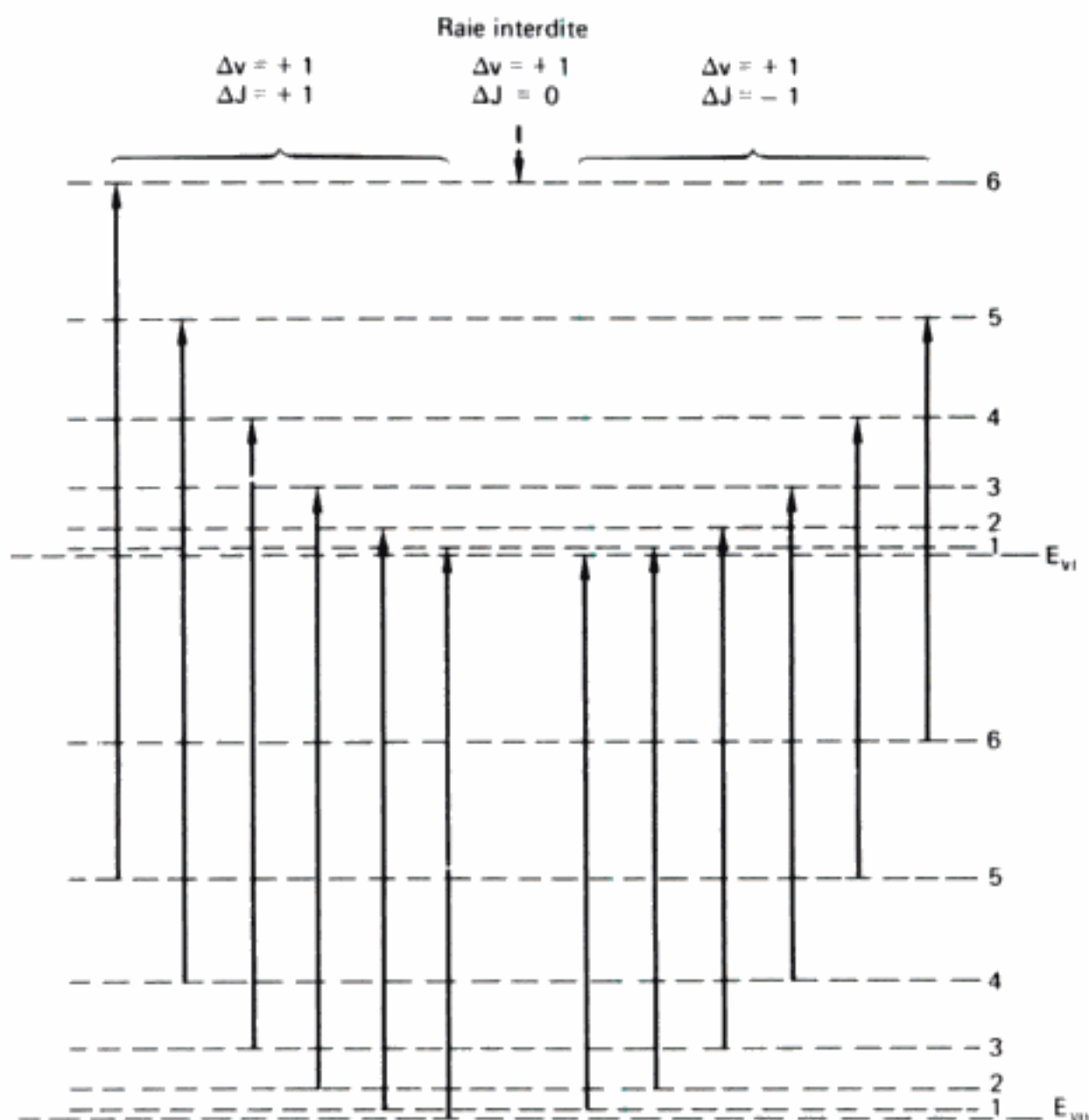


FIG. 32.

Or, si le niveau énergétique initial correspond au nombre quantique J et que la variation ΔJ soit négative, $\Delta J = -1$, le niveau final est défini par un nombre quantique inférieur d'une unité soit $J - 1$. Il faut donc préciser lors du calcul que le niveau le moins élevé : $J - 1$ est au moins nul

$$J - 1 \geq 0 \quad \text{donc} \quad J \geq 1$$

Dans l'établissement des formules, le nombre J ne doit donc jamais être nul.

Le nombre d'ondes d'une raie est par définition :

$$\nu' = \frac{E_{v_2} + E_{r_2}}{hc}$$

soit

$$\nu' = \frac{E_{v_2} + E_{r_2}}{hc} - \frac{E_{v_1} + E_{r_1}}{hc}$$

En regroupant les variations d'énergie de vibration et de rotation

$$\nu' = \frac{E_{v2} - E_{v1}}{hc} + \frac{E_{r2} - E_{r1}}{hc} \quad (19)$$

Si la différence des énergies de vibration est toujours positive, celle des énergies de rotation peut être positive ou négative. Comme les nombres d'ondes sont toujours des nombres positifs il en résulte que :

$$\nu'_{v+r} = \nu'_v \pm \nu'_r$$

Les nombres d'ondes correspondant à la vibration pure et à la rotation pure ont été calculés précédemment (7) et (17). Toutefois, comme nous avons précisé que le niveau le plus bas ne doit pas être défini par J mais par $J - 1$, la valeur du nombre d'ondes de rotation est en fait :

$$\nu'_r = \frac{h}{4\pi^2 I_c} \cdot J$$

donc

$$\nu'_{v+r} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \pm \frac{hJ}{4\pi^2 I_c}$$

Distance entre les raies du spectre

La valeur ν'_v ne varie pas d'une raie à l'autre puisqu'il s'agit d'une même bande. La distance entre deux raies est donc :

$$\Delta \nu'_{v+r} = \Delta \nu'_r = \frac{h}{4\pi^2 I_c}$$

Une seule exception se produit pour la distance entre la première raie pour laquelle $\Delta J = +1$ et son homologue où $\Delta J = -1$. En effet :

$$\Delta \nu'_{v+r} = \Delta \nu'_r = \frac{h}{4\pi^2 I_c} - \left(-\frac{h}{4\pi^2 I_c} \right) = \frac{h}{2\pi^2 I_c}$$

Cette distance est ainsi double de celle des autres. Ceci correspond à l'absence de la raie $\Delta J = 0$ (fig. 33).

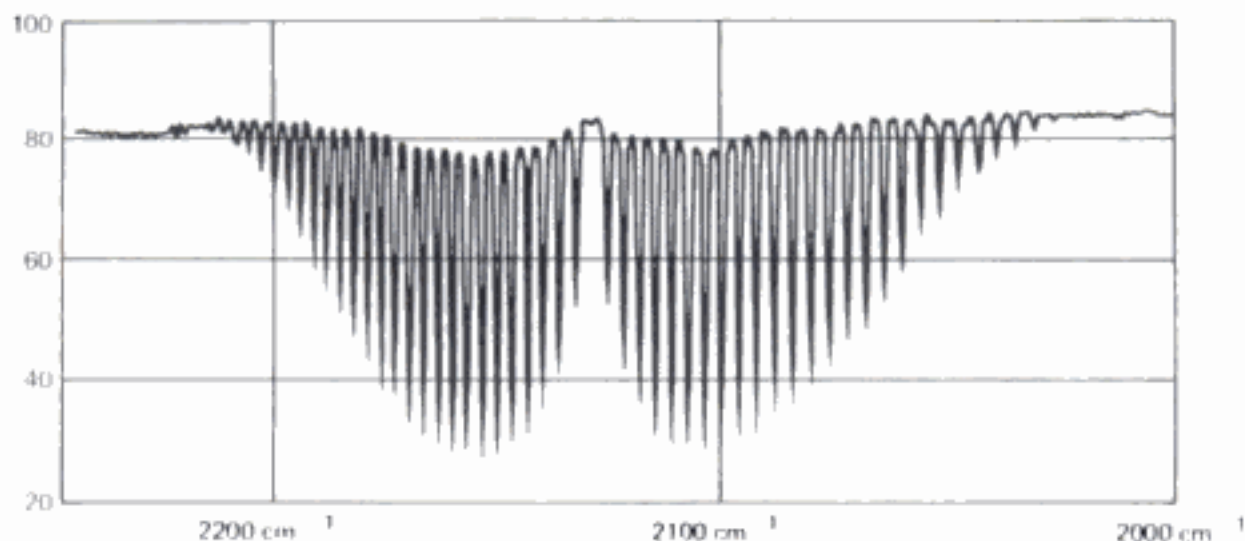


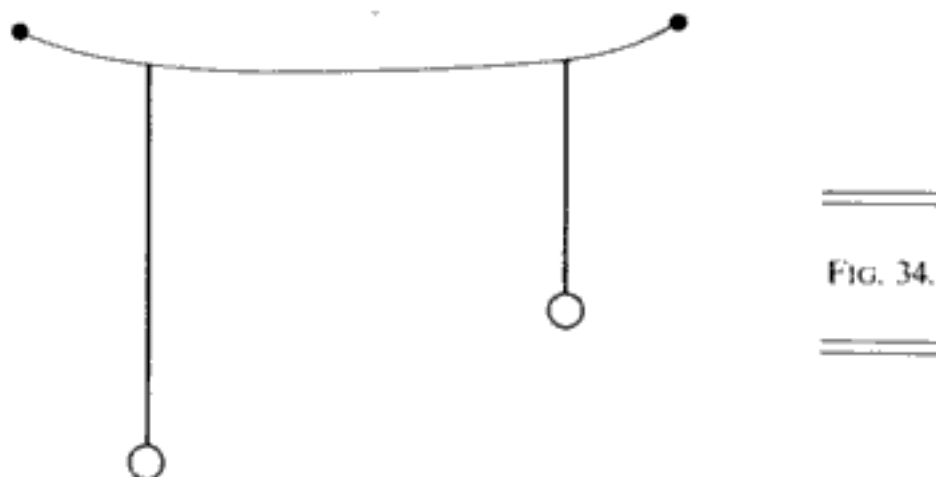
FIG. 33. Spectre IR de l'oxyde de carbone.

En réalité le moment d'inertie $I = \mu r^2$ dépend de la distance r , qui varie entre deux valeurs extrêmes du fait de la vibration. Celle-ci de plus ne correspond pas à une oscillation harmonique. Les raies d'une bande donnée ne sont donc pas exactement équidistantes, comme le montre la figure 33 donnant le spectre de l'oxyde de carbone.

● **Intensité des raies.** — Les transitions sont de moins en moins probables, au fur et à mesure que le niveau initial de l'énergie de rotation est plus élevé, en raison de la loi de Boltzmann. On devrait donc observer des raies de plus en plus faibles, lorsque l'on s'éloigne du centre de la bande. Cependant la très grande proximité des premiers niveaux de rotation, et le fait que l'énergie absorbée soit très grande par rapport à la seule variation d'énergie rotationnelle, puisqu'elle fait intervenir la vibration, ont pour conséquence que ce ne sont pas les premières raies correspondant à une transition ($J = 1 \rightleftharpoons J = 0$) qui sont les plus intenses, comme le montre également la figure 33.

INTÉRÊT DES SPECTRES INFRAROUGES DANS L'ANALYSE FONCTIONNELLE DES MOLÉCULES POLYATOMIQUES

L'étude théorique qui a été faite dans le cas d'une molécule biatomique, est très difficile à réaliser, dès que l'on atteint des molécules de taille plus importante. Or c'est le cas de la plupart des composés organiques, et surtout de ceux qui ont un intérêt pharmaceutique. Pour envisager l'interprétation d'un spectre, on peut ici encore prendre une analogie à l'échelle macroscopique : c'est celle du couplage de deux mouvements pendulaires : si l'on suspend deux pendules à un même fil souple, selon la figure 34 on constate



que, si les longueurs des deux pendules sont assez différentes, le mouvement imprimé à l'un d'eux, ne se répercute pratiquement pas à l'autre. Par contre, si les longueurs sont très proches, les deux pendules interagissent; on dit qu'il y a couplage. Leur période d'oscillation peut alors être largement modifiée. Si l'on

applique un raisonnement analogue au cas d'une molécule, on peut envisager qu'au sein de celle-ci une association de deux atomes peut vibrer avec une intensité importante, alors que le reste de la molécule reste quasi immobile.

Ceci permet, au prix d'une certaine approximation, d'attribuer une fréquence observée dans le spectre à la vibration d'un seul groupement de deux atomes. Toutefois, si plusieurs groupes de deux atomes sont susceptibles de vibrer à des fréquences voisines, il faut tenir compte des possibilités de couplage, auxquelles correspondront des vibrations dites de combinaison. De plus, si une vibration est très forte, elle peut renforcer l'amplitude d'une vibration de nombre d'ondes voisin : c'est la résonance de Fermi.

Vibration de valence

L'étude théorique de l'énergie de vibration rotation a été réalisée dans le cas où les mouvements de la molécule sont libres, c'est-à-dire à l'état gazeux. Les spectres de molécules polyatomiques à l'état gazeux présentent eux-aussi des bandes formées de nombreuses raies. Mais le plus souvent, ce sont des spectres à l'état liquide ou solide qui sont obtenus, et dans ces conditions, les rotations des molécules sont entravées. Il en résulte que l'on observe des bandes plus ou moins larges, mais ne présentant pas la structure fine de raies, due à la libre rotation. Le nombre d'ondes (ou la fréquence) du maximum de la bande correspond à une transition de vibration, c'est donc sur la valeur calculée du nombre d'ondes de vibration que l'étude suivante est fondée. Dans cette valeur :

$$\nu' = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

les deux seules variables sont la *constante de rappel*, ou constante de force, k et la *masse réduite* μ . Ainsi quand on étudie un groupe de deux atomes de la molécule, plus la constante de force est grande, plus le nombre d'ondes est élevé. Au contraire, plus la masse réduite est importante, et plus le nombre d'ondes est faible.

Avant d'envisager l'influence de ces deux paramètres, il importe de préciser les limites habituelles des spectres infrarouges. Exprimées en nombre d'ondes, elles vont de $4\,000\text{ cm}^{-1}$ à 400 cm^{-1} , voire à 100 cm^{-1} surtout lorsqu'il s'agit de l'étude de substances minérales (moléculaires ou ioniques) constituées d'atomes relativement lourds.

● **Influence de la masse des deux atomes intéressés. — Liaisons faisant intervenir l'hydrogène.** — Si l'un des deux atomes en vibration est de masse petite, la masse réduite

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

est faible. Dans le cas de liaisons où entre un atome d'hydrogène, la masse réduite est proche de l'unité.

En effet si $m_2 = 1$,

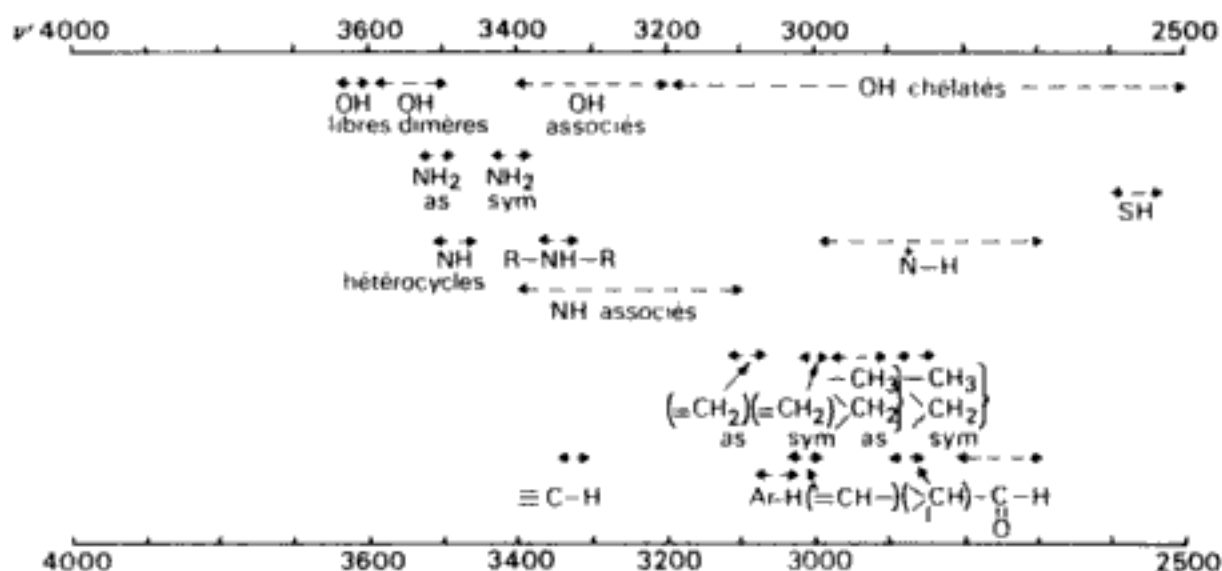
$$\mu = \frac{m_1}{m_1 + 1}^*.$$

La masse réduite est donc voisine, qu'il s'agisse de liaisons :

$$\text{OH} : \mu = \frac{16}{17}, \quad \text{NH} : \mu = \frac{14}{15}, \quad \text{ou} \quad \text{CH} : \mu = \frac{12}{13}.$$

Il en résulte que les bandes correspondant aux liaisons qui font intervenir l'hydrogène, se trouvent toutes dans la zone des grands nombres d'ondes entre 4000 cm^{-1} et 2500 cm^{-1} comme le montre le tableau V.

Tableau V. — VIBRATIONS DE VALENCE DES GROUPEMENTS HYDROGÉNÉS.



Dans le cas où l'hydrogène est remplacé par son isotope lourd : le deutérium, la masse réduite se trouve approximativement multipliée par 2, et donc le nombre d'ondes de la bande divisé par $\sqrt{2}$.

Liaisons entre deux atomes autres que l'hydrogène. — La masse réduite, dans ce cas, augmente considérablement. Une liaison entre deux atomes de carbone par exemple, correspond à une masse réduite de

$$\mu = \frac{12 \times 12}{12 + 12} = 6.$$

* Les valeurs des masses sont présentées en masse réelle d'un atome : $\frac{\text{masse de l'atome gramme}}{\text{nombre d'Avogadro}}$; on peut, pour simplifier, considérer que l'on raisonne en unité de masse atomique (uma).

Il en résulte que, par rapport au nombre d'ondes de vibration d'une liaison carbone-hydrogène, qui est de l'ordre de $3\,000\text{ cm}^{-1}$, celui d'une telle liaison est $\sqrt{6} = 2,45$ fois plus faible. Il est donc voisin de $1\,200\text{ cm}^{-1}$.

D'une façon générale, plus la masse de l'un au moins de deux atomes concernés par la vibration de valence devient grande, plus le nombre d'ondes se déplace vers les faibles valeurs, comme le montre le tableau VI.

Tableau VI. — VIBRATIONS DE VALENCE DES LIAISONS ENTRE LE CARBONE ET LES PRINCIPAUX HÉTÉROATOMES.

Liaison	Nombre d'onde (en cm^{-1})
>C-H	3 300 - 2 800
>C-F	1 400 - 1 000
>C-O-	1 300 - 1 050
>C-N	1 360 - 1 050
>C-Cl<	800 - 600
>C-S-	800 - 600
>C-P<	750 - 650
>C-Br	650 - 550
>C-I	600 - 500

• **Influence de la constante de rappel.** — Cette constante est liée au nombre des liaisons établies entre les deux atomes impliqués, mais aussi à la longueur de la liaison.

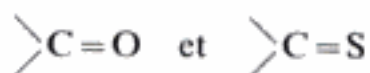
Liaisons multiples. — La constante de rappel est sensiblement proportionnelle au nombre des liaisons. Ainsi, dans le cas des liaisons entre atomes de carbone, elle présente les valeurs données dans le tableau VII. Comme c'est la racine carrée de la constante qui intervient, le nombre d'ondes d'une vibration d'une liaison éthylénique est environ $\sqrt{2} = 1,414$ fois plus grand que celui de la simple liaison, et celui d'une liaison acétylénique $\sqrt{3} = 1,732$ fois plus élevé (tableau VII).

L'influence de la constante de rappel est ainsi prépondérante, lorsque la masse réduite est peu différente d'un couple d'atomes à l'autre. C'est ainsi que l'on retrouve dans la même zone de nombre d'ondes, dérivés acétyléniques et nitriles, d'une part, et dérivés éthyléniques, carbonyles et iminés d'autre part (tableau VIII).

Tableau VII.

Liaison	k (dynes/cm)	ν' (cm^{-1})
$-\text{C} \equiv \text{C}-$	$15 \cdot 10^5$	2 250-2 100
$\text{>C}=\text{C}<$	$10 \cdot 10^5$	1 700-1 600
$\text{>C}-\text{C}<$	$5 \cdot 10^5$	1 260-1 100

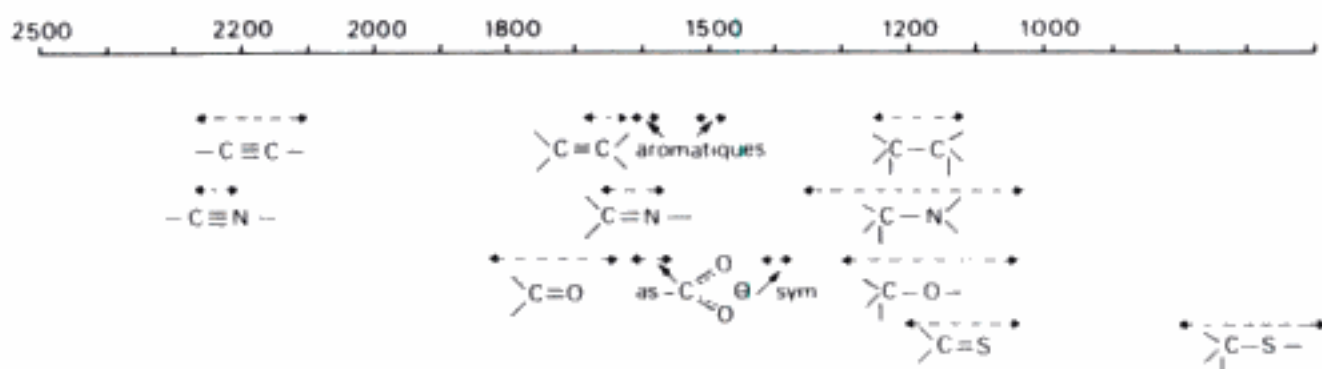
Lorsque les masses réduites diffèrent, il faut tenir compte des deux paramètres. C'est le cas des liaisons



La première vibre à des fréquences $\sqrt{2}$ fois plus fortes que la seconde (tableau VIII).

Longueur de la liaison. — La force d'attraction, et donc de liaison, est d'autant plus grande que la distance entre les centres des atomes est plus faible. Donc plus l'un des atomes est gros, et moins la constante de rappel est importante. C'est ce qui explique que la liaison $-\text{SH}$ vibre à un nombre d'ondes beaucoup plus bas que la liaison $-\text{OH}$, alors que les masses réduites sont voisines (tableau V).

Tableau VIII. — INFLUENCE DES LIAISONS MULTIPLES SUR LE NOMBRE D'ONDES DES RAIES DE VIBRATION DE VALENCE.

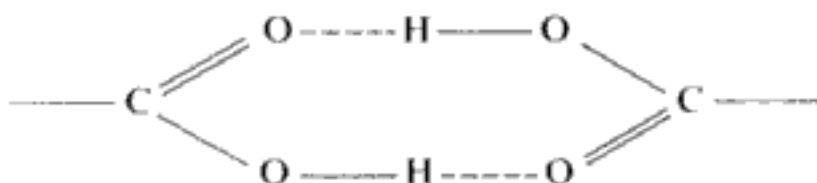


• **Influence de la nature de la vibration de valence.** — Ces vibrations, dès qu'elles intéressent trois atomes peuvent être symétriques ou asymétriques; c'est le cas de >CH_2 , $-\text{NO}_2$, $-\text{CO}_2$, $-\text{SO}_2-$

Dans ces conditions, on observe toujours deux bandes. Celle qui présente le plus grand nombre d'ondes, et donc qui nécessite l'absorption de l'énergie la plus forte, est toujours la vibration asymétrique.

• **Influence de l'environnement.** — Il résulte de ce qui précède que tout ce qui tend à diminuer la force des liaisons, ou à allonger celles-ci, entraîne un déplacement du nombre d'ondes vers les faibles valeurs.

Liaison hydrogène. — Ainsi la liaison hydrogène réalisée entre un hydroxyle et un carbonyle, comme par exemple dans un groupement acide carboxylique



entraîne le déplacement de la vibration de —OH à des nombres d'ondes de l'ordre de 3000 cm^{-1} ou même moins.

Conjugaison. — La conjugaison de liaisons, éthyléniques par exemple, entraîne une délocalisation des électrons π . La force de rappel est donc affaiblie par rapport à une double liaison, et augmentée par rapport à une simple liaison. L'exemple le plus important à citer dans ce domaine, est celui des vibrations des liaisons carbonées des cycles aromatiques, qui correspondent à un nombre d'ondes voisin de 1500 cm^{-1} donc plus bas que les doubles liaisons éthyléniques qui absorbent au-dessus de 1600 cm^{-1} .

De même dans le domaine des groupements carbonyles, on observe l'influence de la conjugaison des électrons π , avec des doublets électroniques d'hétéroatomes voisins, qui entraîne une variation dans les nombres d'ondes des vibrations. Ainsi, pour un ester aliphatique, où l'on observe une certaine attraction d'un doublet libre de l'oxygène simplement lié (fig. 35(a)), le nombre d'ondes observé est voisin de 1735 cm^{-1} . Dans le cas d'un ester de phénol, la suppression de l'effet inducteur donneur entraîne un déplacement vers les grands nombres d'ondes (environ 1760 cm^{-1}), puisque la double liaison n'est pas altérée (fig. 35(b)). Au contraire, dans un amide, le caractère donneur de l'atome d'azote, qui est plus important que celui de l'oxygène, provoque un affaiblissement de la force de rappel, et donc l'apparition d'un nombre d'ondes de vibration faible de l'ordre de 1650 cm^{-1} (fig. 35(c)).

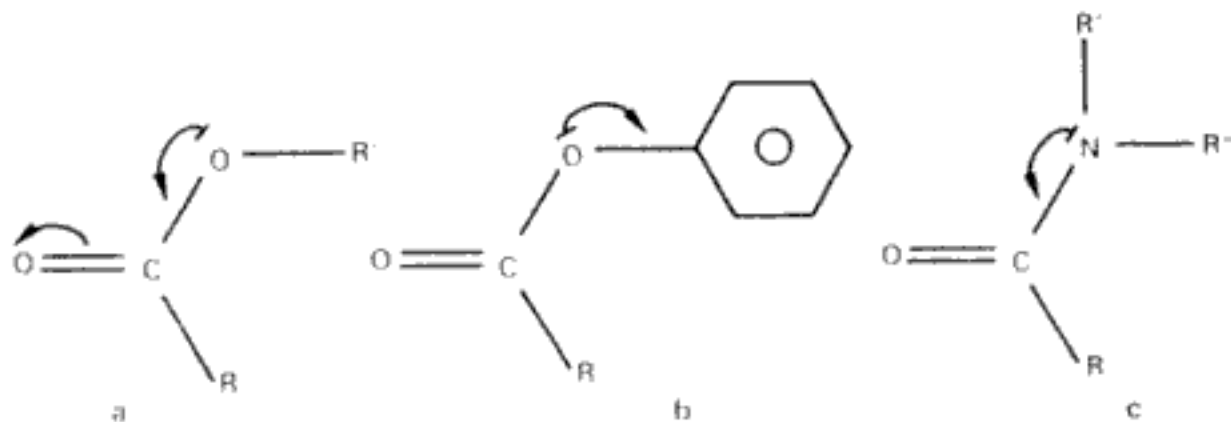
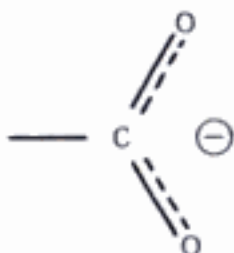


FIG. 35.

Cet affaiblissement de la double liaison devient maximal avec les ions dérivés d'acides carboxyliques, qui ont tendance à prendre la forme mésomère :



le déplacement vers les faibles nombres d'ondes est alors considérable. Alors qu'un acide sous forme libre absorbe vers 1760 cm^{-1} , un sel donne deux vibrations, l'une asymétrique de nombre d'ondes situé entre 1610 et 1550 cm^{-1} , l'autre symétrique, vers 1400 cm^{-1} .

On peut également expliquer par des phénomènes analogues, l'élévation de la constante de rappel dans le cas de liaisons >C-H lorsque le carbone contracte des liaisons multiples avec l'atome de carbone voisin. La détermination des nombres d'ondes de ces vibrations montre en effet, que les liaisons correspondant à des carbures aliphatiques vibrent toutes à des nombres d'ondes inférieurs à 3000 cm^{-1} ; celles qui correspondent à des carbures aromatiques, éthyléniques, acétyléniques, donnent des vibrations plus énergétiques à des nombres d'ondes supérieurs à 3000 cm^{-1} (tableau V).

Vibrations de déformation

L'énergie nécessaire pour obtenir une vibration de déformation est toujours plus faible que celle qui correspond à une vibration de valence. Cette constatation peut déjà se faire à l'échelle macroscopique, où la vibration d'une tige métallique, fixée à l'une de ses extrémités, est relativement facile dans une direction perpendiculaire à son axe, alors que son étirement ou sa contraction est difficile, sinon impossible.

A l'échelle moléculaire, également, les fréquences de vibrations de déformation sont beaucoup plus faibles que celles des vibrations de valence, pour un même groupement de 2 atomes. La zone du spectre qui leur est attribuée, correspond donc aux faibles nombres d'ondes.

Ces vibrations sont nombreuses (v. p. 55), et beaucoup plus sensibles à l'environnement que celles de valence, car elles ont besoin pour se produire d'un volume plus important, et risquent donc d'être entravées par la présence d'atomes voisins.

S'il est souvent malaisé d'attribuer chaque bande à une vibration de déformation donnée, l'intérêt de l'étude de cette partie du spectre correspondant aux faibles nombres d'ondes, n'en est pas moins considérable. En effet, on y observe des différences significatives même entre les spectres de substances chimiquement très voisines, comme des diastéréoisomères. La spécificité est telle que cette région spectrale a été comparée aux *empreintes digitales* d'un être humain. Si l'on observe donc, l'identité du spectre d'un échantillon avec celui d'une substance connue, on peut conclure qu'il s'agit d'une seule et même

molécule. Toutefois, la constatation de différences entre deux spectres infrarouges réalisés sur des produits solides, ne doit pas obligatoirement conduire à affirmer qu'il s'agit de deux molécules distinctes. En effet, deux formes cristallines d'une même substance peuvent présenter des spectres différents. En plus de l'intérêt de ces bandes dues aux vibrations de déformation, dans l'identification des substances organiques, on peut utiliser un certain nombre d'entre elles dans un but d'analyse structurale. C'est le cas des vibrations de déformation hors du plan des liaisons carbone-hydrogène des dérivés aromatiques. Elles permettent de déterminer la présence de substituants en position *ortho*, *méta* ou *para*, en fonction des nombres d'ondes observés : tableau IX.

Tableau IX. — VIBRATION DE DÉFORMATION HORS DU PLAN
DES LIAISONS C — H DANS LES DÉRIVÉS AROMATIQUES.

	ν' (cm ⁻¹)
Monosubstitution	770-730 710-690
Disubstitution, <i>ortho</i>	770-730
Disubstitution <i>méta</i>	810-750
Disubstitution <i>para</i>	860-800
Hydrogène isolé	900-860

Vibrations harmoniques et bandes de combinaison

L'existence de vibrations harmoniques a été indiquée précédemment. Quant aux bandes de combinaison, elles correspondent le plus souvent à la somme des fréquences de deux vibrations de déformation, et sont donc voisines des harmoniques.

Dans le cas des dérivés aromatiques la combinaison de deux vibrations de déformation hors du plan entraîne l'apparition de plusieurs bandes entre 2 000 cm⁻¹ et 1 600 cm⁻¹. Cette dernière est aussi caractéristique des noyaux aromatiques que la bande à 1 500 cm⁻¹ précédemment citée.

Dans le spectre des aldéhydes, plusieurs bandes situées entre 2 820 et 2 700 cm⁻¹, qui apparaissent en plus de la vibration de liaison C — H, sont un exemple de ces combinaisons.

L'importance au plan analytique des vibrations harmoniques et de combinaison s'est encore accrue depuis quelques années. En effet, sont apparues des techniques qualitatives et quantitatives utilisant le domaine du proche infrarouge, situé, comme son nom l'indique, entre le visible et l'infrarouge classique. Ce domaine correspond à des fréquences de vibration, ou à des nombres d'ondes, qui sont des multiples des valeurs observées dans les spectres qui ont été envisagés jusqu'ici. Il s'agit donc notamment de vibrations harmoniques.

Leurs applications analytiques sont exposées ci-dessous (v. p. 95).

INSTRUMENTATION

Les spectromètres infrarouges les plus classiques exploitent la région du spectre comprise entre 4000 cm^{-1} et 600 cm^{-1} , soit sensiblement $2,5\text{ }\mu\text{m}$ (2500 nm) et $16\text{ }\mu\text{m}$.

Les progrès de la technique permettent d'atteindre des zones jusqu'à 100 cm^{-1} d'une part, et à 10000 cm^{-1} d'autre part.

Matériaux utilisés

Le plus gros problème à résoudre est celui de la transparence des matériaux au rayonnement infrarouge. En effet, celui-ci est peu énergétique, et facilement absorbé par les produits courants : le verre est totalement opaque, le quartz n'est transparent que jusqu'à $3,5\text{ }\mu\text{m}$ (environ 2900 cm^{-1}). Il faut alors se résoudre à utiliser des halogénures. Le fluorure de calcium n'est transparent que jusqu'à $6\text{ }\mu\text{m}$ soit 1250 cm^{-1} . Dans les appareils de première génération c'étaient surtout les halogénures alcalins qui étaient utilisés. Le chlorure de sodium est transparent jusqu'à 600 cm^{-1} , le bromure de potassium jusqu'à 400 cm^{-1} et l'iodure de césium permet d'atteindre 200 cm^{-1} . Toutes ces substances présentent l'inconvénient d'une forte solubilité dans l'eau; ceci entraîne la très grande fragilité d'une optique, construite en ces matières, qui risque de se dépolir par condensation de traces d'humidité. C'est pourquoi d'autres minéraux souvent plus solides, mais, surtout, peu ou pas sensibles à l'eau sont actuellement utilisés : sulfure de zinc polycristallin (Irtran) ou fluorure de baryum, (transparents jusque vers 700 ou 750 cm^{-1}), chlorure ou bromure d'argent (rendus peu photosensibles par dopage), sélénium de zinc et surtout bromiodure de thallium (limites d'utilisation de 450 cm^{-1} à 250 cm^{-1}).

Ce dernier possède l'avantage d'un indice de réfraction élevé qui permet des réflexions totales multiples (v. p. 93), mais il présente l'inconvénient de sa toxicité comme tous les sels thalleux.

Certains appareils utilisent une optique en polyéthylène. Ce polymère organique à structure de carbure saturé ne présente que peu de bandes d'absorption. Son inertie vis-à-vis de l'eau permet de réaliser des mesures en solution aqueuse.

Appareillage

La source est constituée par un filament porté à l'incandescence. Ce filament est réalisé à l'aide de corps réfractaires : oxyde de cerium (lampe de Nernst), carbure de silicium (lampe Globar). Dans le cas du proche infrarouge, c'est une lampe halogène-tungstène qui est généralement utilisée.

La difficulté la plus grande concerne la disproportion de l'énergie émise aux différentes longueurs d'ondes. Ainsi une lampe Globar à une énergie qui est 600 fois moindre à 600 cm^{-1} qu'à $5\,000\text{ cm}^{-1}$. Il en résulte que, pour avoir suffisamment d'énergie aux faibles nombres d'ondes, il faut ouvrir très largement la fente du monochromateur. Or, si la fente est trop large, la lumière émise correspond à une largeur de bande trop large, ce qui entraîne un élargissement et un écrasement des bandes (fig. 36).



Le système dispersif est, soit un prisme, généralement en sel gemme, soit un réseau, soit un miroir de Littrow, dont la rotation est programmée par un système de cames qui entraîne en même temps l'ouverture de la fente du monochromateur. Le détecteur ne peut pas être un photomultiplicateur d'électrons classique, car l'énergie n'est pas suffisante. Aussi utilise-t-on l'effet calorifique dû à l'absorption du rayonnement infrarouge. On emploie alors des bolomètres (dont le principe est fondé sur la variation de la résistance électrique en fonction de la température) (voir cours de physique).

Il est important de noter également que la vitesse de l'enregistrement joue un rôle non négligeable dans l'aspect des spectres, en raison de l'inertie de la plume, qui met un certain temps à revenir à son point de départ.

Spectromètres à transformée de Fourier

La faible énergie portée par le rayonnement infrarouge a longtemps été un obstacle à la détermination de spectres sur de petites quantités de substances. En effet, les différences d'intensité lumineuse détectées étaient alors insuffisantes pour obtenir un tracé satisfaisant, d'autant plus que l'utilisation d'un système dispersif et la sélection à l'aide d'un monochromateur entraînent une perte importante de l'énergie émise par la source. Il en résultait la nécessité de disposer d'au moins un centigramme d'échantillon pour réaliser une détermination convenable.

Depuis quelques années, sont apparus des appareils fondés sur une toute autre approche. Grâce à l'augmentation de l'énergie lumineuse envoyée sur l'échantillon, ils permettent une diminution corrélative de la masse de celui-ci. Le principe en est le suivant : l'envoi d'une lumière infrarouge polychromatique (spectre continu) sur la substance à étudier, entraîne une absorption simultanée

aux différents nombres d'ondes. La séparation des différentes radiations et la mesure de l'énergie absorbée pour chacune d'elles est réalisée en utilisant un système de franges d'interférences à deux ondes.

Un bref rappel sur ce phénomène paraît souhaitable.

En lumière monochromatique visible, un tel système est formé de franges brillantes ou obscures selon que la différence de marche entre les deux ondes est ou non, un multiple de la longueur d'onde.

Dans le cas d'une lumière polychromatique visible, les raies brillantes correspondant aux différentes couleurs, sont situées dans des positions différentes selon la valeur de leurs longueurs d'onde. Il se produit donc un phénomène de dispersion. En infrarouge, comme dans le domaine précédent, la mesure de l'intensité lumineuse de chaque frange permet de déterminer un *interférogramme*.

La transformée de Fourier de l'enregistrement ainsi obtenu, fonction de la différence de marche, permet d'obtenir une courbe dépendant de la fréquence (ou du nombre d'ondes) c'est-à-dire un spectre (v. p. 12).

De tels appareils permettent des mesures qualitatives et même quantitatives sur des échantillons de très faible masse, telles que celles contenues dans un effluent à la sortie d'un chromatographe. Ils rendent également possible la mesure de petites variations d'absorption, comme par exemple celles obtenues sur un solvant pur et sur une solution dans ce même solvant, même si celui-ci présente une absorbance non négligeable en infrarouge. C'est notamment le cas de l'eau.

Obtention des spectres; techniques d'échantillonnage

• **Gaz et liquides.** — On utilise pour les gaz ou les liquides des cuves en sel gemme, en bromure de potassium ou en bromiodure de thallium. Dans le cas des liquides, on peut utiliser des lames à faces parallèles de ces divers matériaux sur lesquelles sont déposés des films de produits. Il est possible d'étudier ainsi des liquides purs ou des solutions. Dans ce dernier cas, il convient de choisir un solvant dont les liaisons interatomiques ne vibrent pas à des fréquences qui interféreraient avec celles du soluté. On choisit le plus souvent des hydrocarbures saturés ou des solvants chlorés, mais il n'existe pas de solvants qui conviennent dans toute l'étendue du spectre. Il faut en utiliser plusieurs successivement; le tétrachlorure de carbone qui ne présente pratiquement pas de bandes dans la zone comprise entre 4000 cm^{-1} et 1335 cm^{-1} , et le sulfure de carbone sensiblement transparent entre 1350 cm^{-1} et 400 cm^{-1} , forment ainsi un ensemble théoriquement satisfaisant.

Quoi qu'il en soit, il y a intérêt à réaliser des solutions assez concentrées, pour éviter d'être gêné par une légère absorption du solvant, dans le cas de dilutions excessives. Il est important en outre de noter que l'emploi de solvants polaires entraîne le risque d'interactions solvant-soluté provoquant le déplacement des bandes. Enfin, l'utilisation de l'eau, autrefois prohibée, est maintenant possible grâce aux progrès techniques que nous avons cités précédemment.

● **Solides cristallisés.** — Si on ne les dissout pas, on peut les mettre en suspension dans un liquide visqueux, dont les bandes sont aussi peu gênantes que possible, comme l'huile de vaseline.

Un autre moyen d'étude, consiste à évaporer une goutte de solution concentrée sur une lame d'halogénure optiquement plane. Mais le plus habituellement, on utilise la technique de pastillage. Une petite quantité de substance est triturée avec du bromure de potassium (ou un chlorure alcalin) pur et sec. Le mélange homogène est ensuite comprimé sous forte pression et sous vide, pour former une lame à face parallèles. Cette lame ou pastille est alors placée dans le trajet du faisceau lumineux. Cette technique est décrite à la Pharmacopée Française.

● **Réflexion totale atténuée.** — Lorsqu'un faisceau lumineux arrive à l'interface entre deux milieux d'indices de réfraction différents, il peut subir du côté du milieu le plus réfringent une réflexion totale. Il faut pour cela que l'angle d'incidence soit supérieur à un certain angle limite (v. p. 191 et cours de physique).

La théorie électromagnétique de la lumière indique que, lorsque cette réflexion se produit, une certaine quantité d'énergie lumineuse franchit l'interface, pénètre légèrement dans le second milieu, et subit seulement ensuite la réflexion. Si ce second milieu absorbe la lumière à cette fréquence, le faisceau réfléchi transporte moins d'énergie que le faisceau incident, et il est possible de réaliser de cette manière un spectre d'absorption.

Cette propriété qui existe dans toutes les régions spectrales est observée plus nettement en infrarouge, où la longueur d'onde de la lumière est grande. La distance de laquelle le rayonnement pénètre est en effet de l'ordre d'une demi-longueur d'onde (soit dans le cas de l'infrarouge d'environ $5\ \mu\text{m}$ pour un nombre d'onde de l'ordre de $1\ 000\ \text{cm}^{-1}$).

Ce phénomène porte le nom général de *réflexion totale atténuée*. Des porte-échantillons spéciaux permettant le plus souvent de réaliser des *réflexions multiples* s'adaptent au compartiment porte-échantillon des spectrophotomètres.

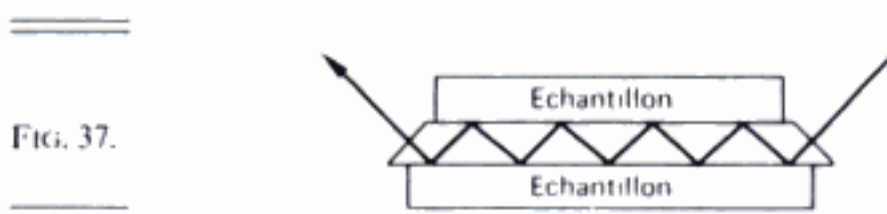


FIG. 37.

Les spectres de réflexion totale atténuée ne sont pas absolument identiques aux spectres conventionnels, mais ils sont cependant similaires. La distorsion devient de plus en plus forte au fur et à mesure que l'angle d'incidence approche de l'angle limite. Toutefois c'est au voisinage de cet angle que l'absorption est la plus forte. Aussi y a-t-il un optimum à trouver pour la construction d'un tel système.

L'intérêt de cette méthode est grand. On peut déterminer ainsi le spectre de produits opaques : caoutchoucs, matières plastiques, polymères divers..., puisque le rayonnement ne traverse pas la substance.

Dans le cas de liquides ou de gels transparents, il est possible d'utiliser un système de réflexions multiples pour permettre une augmentation du chemin parcouru à l'intérieur de l'échantillon. Le spectre obtenu correspond alors essentiellement à une absorption classique.

D'autres systèmes ont été plus récemment proposés et sont utilisés aussi bien dans le domaine de l'infrarouge classique, que dans celui du proche infrarouge. L'obtention de réflexions multiples sur l'interface air-échantillon, si celui-ci est opaque ou sur une paroi réfléchissante située sous l'échantillon, si celui-ci est transparent, est obtenue grâce à une sphère réfléchissante qui entoure presque totalement le système optique proprement dit et qui contient également le détecteur.

APPLICATIONS DE LA SPECTROMÉTRIE INFRAROUGE

Identification d'un composé organique

La spectrométrie infrarouge fournit une solution rapide à ce problème. Il suffit de vérifier l'identité de chacune des bandes du spectre de référence et du spectre du produit étudié, tracés dans les mêmes conditions d'échantillonnage (gaz, liquides, ou solides) et avec des appareils de mêmes performances. Le nombre d'ondes doit être considéré comme déterminé avec une précision de 5 à 10 cm^{-1} selon les zones du spectre.

La moindre différence structurale apparaît sur le spectre surtout au niveau des faibles nombre d'ondes (vibrations de déformation).

Il faut être attentif au fait que les échantillons doivent se trouver sous le même état. En effet, on peut observer des déplacements de fréquences entre deux états différents d'une même substance. Ainsi la bande carbonyle du méthylacétamide absorbe à 1 650 cm^{-1} en phase liquide pure (ou en phase solide); à 1 700 cm^{-1} en solution diluée et à 1 715-1 720 cm^{-1} en phase gazeuse.

D'autre part, dans le même type d'échantillonnage, s'il s'agit d'un solide, il faut prendre garde de ne pas conclure à la non identité de deux substances au seul vu de leur spectre en phase solide, puisque des formes cristallines différentes peuvent conduire à des spectres différents. Il convient donc dans ce cas de réaliser en outre des spectres en phase liquide ou en solution.

Analyse fonctionnelle

L'interprétation du spectre permet de prévoir la présence de groupements biatomiques (v. p. 83). Ce ne sont donc là, le plus souvent, que des fractions de groupements fonctionnels et il est nécessaire de chercher dans le spectre plusieurs bandes pour conclure à la présence d'une fonction donnée.

Analyse quantitative

La loi de Beer Lambert est applicable dans l'infrarouge comme dans les autres domaines spectraux. Toutefois, dans ce cas, l'absorption non spécifique (effet calorifique) est importante et gêne la précision des mesures avec les appareils classiques, en dépit de l'utilisation de solutions concentrées, et donc de cuves très minces, limitant au maximum cette absorption parasite du solvant.

L'apparition des spectromètres à transformée de Fourier augmente considérablement les possibilités de dosage dans ce domaine. En effet, ces appareils permettent des mesures directement en absorbance, sur des quantités inférieures à 100 ng.

● *Détecteurs infrarouges pour chromatographie.* — L'amélioration de la sensibilité, dont il est fait état ci-dessus, rend possible à la fois une identification précise de la substance et une grande sélectivité de la détection quantitative.

En effet, le premier but est atteint par l'obtention en moins d'une minute du tracé du spectre infrarouge correspondant à un pic, aussi bien en chromatographie gaz-liquide qu'en chromatographie liquide. Au plan qualitatif, la détection est possible en opérant à un nombre d'ondes donné.

Or, contrairement au domaine du visible et de l'ultraviolet, où les bandes d'absorption sont très larges et peu spécifiques et se chevauchent très fréquemment pour plusieurs produits différents, les spectres infrarouges, constitués de bandes plus étroites, permettent, par exemple, la détection des seules substances possédant un groupement particulier (carbonyle, amine etc...).

● *Spectrométrie dans le proche infrarouge.* — Cette méthode d'apparition récente, utilise le domaine spectral situé entre 800 et 2 700 nm (c'est-à-dire entre 12 500 et 3 700 cm^{-1}).

Ces valeurs montrent bien qu'il s'agit du domaine commençant à la fin du visible (rouge profond) et se terminant au niveau des plus grandes valeurs (en nombres d'ondes) du spectre infrarouge classique, (maintenant appelé infrarouge moyen).

Les bandes observées dans le domaine sont donc dues, non seulement aux transitions électroniques les moins énergétiques, mais aussi et surtout à des harmoniques ou à des combinaisons de fréquences de vibration.

Les principales liaisons intéressantes mettent en jeu des harmoniques des vibrations classiques. L'intensité des bandes décroît avec le rang de l'harmonique. C'est pourquoi ce sont très souvent les liaisons mettant en jeu l'hydrogène et donnant une harmonique de rang 2 qui sont utilisées.

Ainsi, une liaison OH absorbe à 1 420 nm ($7\,045\text{ cm}^{-1}$)

NH 1 520 nm ($6\,580\text{ cm}^{-1}$)

CH 1 750 nm ($5\,715\text{ cm}^{-1}$)

Mais d'autres bandes peuvent être utilisées même s'il s'agit de troisième et quatrième harmoniques. C'est le cas des bandes C—O à 2 900 nm ($3\,450\text{ cm}^{-1}$) et C=O à 1 600 nm ($6\,250\text{ cm}^{-1}$).

Toutes ces bandes sont naturellement moins intenses que les bandes correspondant aux vibrations fondamentales. Il en résulte que les spectres obtenus ne risquent pratiquement pas de conduire à une saturation et qu'il est ainsi possible de réaliser aisément des méthodes de dosage.

En outre, comme les autres bandes des spectres infrarouges, elles sont relativement étroites et nombreuses. De ce fait, elles conduisent à la possibilité d'identification utilisant des techniques analogues à celles applicables à l'infrarouge classique. Toutefois, l'un des avantages de l'utilisation du proche infrarouge est qu'il est possible d'opérer avec une optique en quartz et avec une source lumineuse halogène-tungstène de très haute énergie et, en outre, de réaliser des spectres convenables sur des produits solides, même opaques, grâce à un système de réflexions multiples.

En ce qui concerne les liquides, il n'existe aucune difficulté théorique à l'automatisation et des cellules à circulation ont été proposées.

Pour l'étude des solides, il faut que la surface où se produit la réflexion soit aussi plane que possible sous peine d'observer des distorsions dues à des diffractions parasites. C'est ce qui se produit notamment pour des poudres de granulométrie différente d'une même substance, qui peuvent donner des indications plus ou moins modifiées. Ceci n'est d'ailleurs pas obligatoirement nuisible, car il est possible ainsi de différencier des échantillons en fonction de leur seule granulométrie.

En pratique, pour l'identification, les spectres sont rarement tracés et le monochromateur est remplacé par une vingtaine de filtres interférentiels qui permettent un nombre suffisant de mesures pour réaliser de bonnes diagnoses grâce à un système de comparaison de plusieurs déterminations sur le même échantillon (distances de Mahalanobis).

A côté de cette utilisation pour la diagnose, ont été proposées des méthodes de dosage dans les médicaments terminés, les aliments ou les milieux biologiques.

CHAPITRE VI

SPECTRES DE DIFFUSION RAMAN

PRINCIPE

Bien que ces spectres utilisent des radiations de grande énergie, donc correspondant à des transitions électroniques, (domaine du visible, et de l'ultraviolet), leur intérêt, comme celui de l'absorption infrarouge, est de connaître les vibrations (ou les rotations) de la molécule. C'est la raison pour laquelle ils sont étudiés après les spectres infrarouges.

Découverte en 1928 par le physicien indien Raman, puis quelque peu supplantée par la spectrométrie infrarouge, bien que les renseignements fournis soient souvent complémentaires, la spectrométrie de Raman connaît un nouvel essor, grâce à l'utilisation du laser.

Pour l'étude du spectre de diffusion d'une substance, on opère en solution homogène, et on procède à l'excitation à l'aide d'une radiation monochromatique de fréquence ν_0 , qui ne produise ni absorption ni fluorescence. L'observation perpendiculairement à la direction du faisceau lumineux incident, montre que la lumière diffusée n'est plus monochromatique, mais qu'il existe plusieurs raies. La raie centrale du spectre obtenu, qui est la plus brillante, correspond à une fréquence identique à celle de la lumière incidente. Il y a dans ce cas un simple phénomène de diffusion. Aussi cette raie centrale est elle appelée raie de Rayleigh, du nom de celui qui a, le premier, étudié la diffusion lumineuse.

Mais de part et d'autre de cette raie (fig. 38), on observe de nombreuses raies d'intensité plus faible, et dont les positions, en fréquence ou en nombre d'ondes, se situent symétriquement de part et d'autre de la raie de Rayleigh ν_{A0} . On peut donc dire que ces fréquences sont telles que :

$$\nu_A = \nu_{A0} \pm \nu$$

où ν peut prendre différentes valeurs $\nu_1, \nu_2, \nu_3, \dots, \nu_n$.

Les fréquences ν_A ne sont pas caractéristiques de la molécule. En effet, il est possible de réaliser un autre spectre, pour la même molécule, en utilisant une raie incidente de fréquence différente ν_{B0} . On obtient alors un spectre de diffusion présentant des fréquences différentes ν_B telles que

$$\nu_B = \nu_{B0} \pm \nu$$

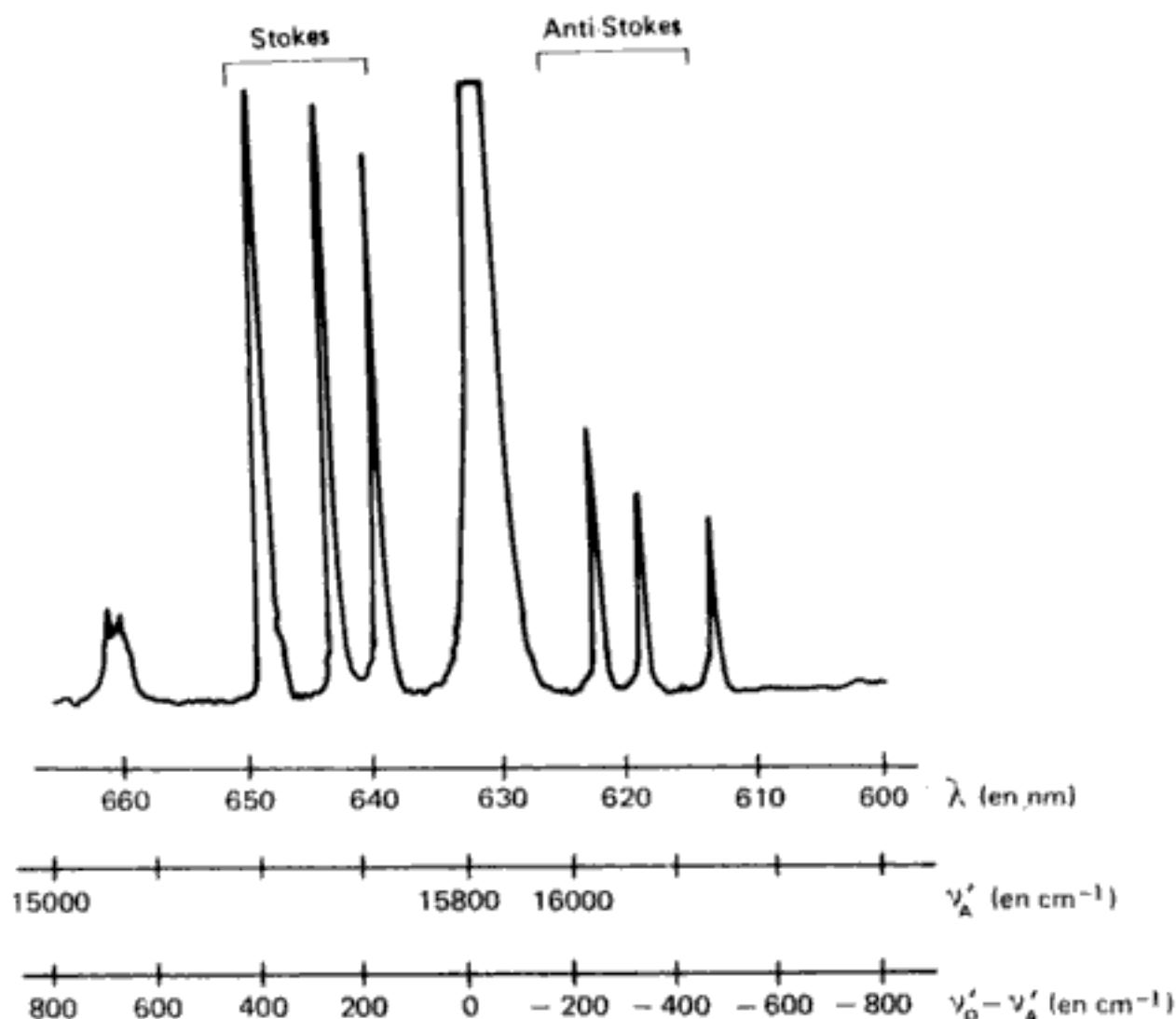


FIG. 38. — Spectre Raman du tétrachlorure de carbone.
Longueur d'onde d'excitation 632,8 nm (laser hélium-néon).

Ce sont les différences ν , entre la fréquence initiale et les fréquences du spectre de diffusion, qui sont caractéristiques d'une molécule donnée, quelle que soit la fréquence de la radiation excitatrice. Elles sont de l'ordre de grandeur des fréquences de rotation ou de vibration. L'ensemble des raies de diffusion constitue le spectre Raman. Les raies, correspondant à une diminution de fréquence sont souvent appelées raies Stokes par analogie avec la fluorescence. Elles sont plus intenses que les raies symétriques dues à une élévation de fréquence (raies anti-Stokes). (Voir p. 134).

Or la valeur de la différence de nombre d'ondes entre la raie centrale et les deux raies symétriques est identique; c'est la raison pour laquelle on ne représente fréquemment que la moitié du spectre qui correspond aux raies Stokes.

ÉTUDE QUANTITATIVE

La première notion importante dans la spectrométrie Raman est la différence considérable de grandeur, entre l'intensité lumineuse transmise et l'intensité diffusée, qui est très petite devant la première. Cette différence est logique,

puisque la radiation lumineuse ne fait pas partie du spectre électronique de la molécule.

Une seconde constatation doit être faite; c'est que le nombre d'ondes ν'_0 de la radiation incidente n'est pas très différent des nombres d'ondes des raies diffusées. Ainsi dans l'exemple du spectre du tétrachlorure de carbone obtenu à l'aide du laser hélium-néon (fig. 38) les différences $\nu' = \nu'_0 - \nu'_A$ observées ne sont que de 400 à 800 cm^{-1} pour une lumière excitatrice ν'_0 de 15 802 cm^{-1} . La molécule ne conserve donc qu'une très faible partie de l'énergie du photon, qui l'a ébranlée.

On peut donc en première approximation, considérer que le photon exciteur a élevé la molécule à un niveau énergétique (E); mais ce niveau est fictif (ou interdit), car il ne correspond pas à un niveau quantifié de la molécule. Il ne peut y avoir absorption de cette énergie $h\nu_0$, la fréquence ν_0 ne faisant pas partie du spectre d'absorption électronique. Il s'agit simplement d'un « choc » entre le photon et la molécule dont l'explication sera donnée ultérieurement.

On peut cependant schématiser le phénomène en écrivant :

$$(E) = E_0 + h\nu_0 \quad (1)$$

E_0 étant le niveau d'énergie initial de la molécule; ν_0 étant la fréquence de la lumière excitatrice.

De ce niveau, la molécule revient à un niveau énergétique E_1 permis, donc correspond à une énergie quantifiée. Ce retour s'accompagne de l'émission d'un quantum d'énergie correspondant à une fréquence ν_A telle que

$$E_1 = (E) - h\nu_A \quad (2)$$

soit en tenant compte de (1)

$$h\nu_0 = E_1 - E_0 + h\nu_A$$

La différence $E_1 - E_0$ correspond à la variation d'énergie ΔE au niveau de la molécule.

$$\Delta E = E_1 - E_0 = h(\nu_0 - \nu_A)$$

On peut distinguer trois cas selon que ΔE est nulle, positive ou négative.

a) si elle est nulle $E_1 = E_0$, la molécule revient au niveau énergétique initial et les fréquences (ou nombres d'ondes) sont égales

$$\nu_A = \nu_0$$

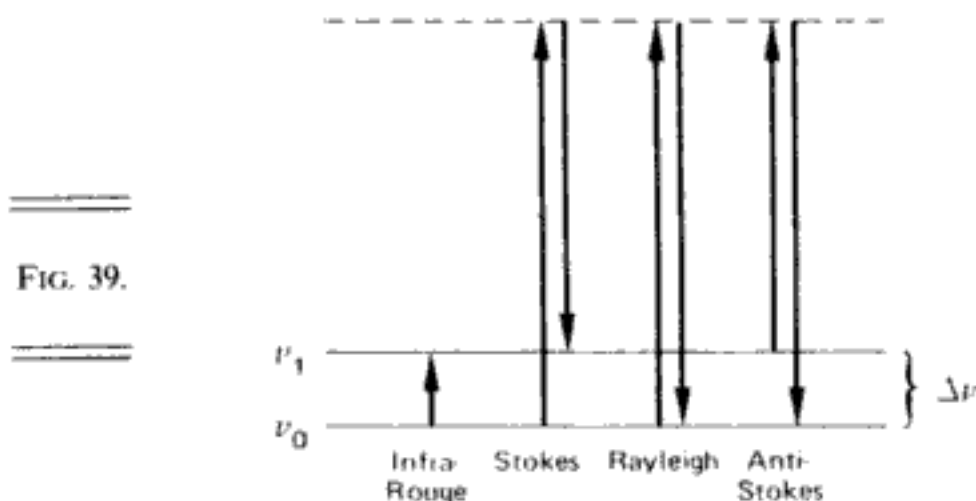
La raie diffusée est la raie de Rayleigh.

b) Si l'énergie finale est supérieure à l'énergie initiale, ΔE est positive.

De la différence $\nu_0 - \nu_A > 0$, on déduit que la fréquence diffusée est inférieure à la fréquence excitatrice : le photon a perdu de l'énergie qui a été absorbée par la molécule.

Il a été indiqué précédemment que les raies correspondant à cette transition, sont d'intensités relativement fortes. Ce sont les raies Stokes.

FIG. 39.



c) Le troisième cas correspond à une variation négative de l'énergie; ΔE est négative, et donc la molécule a cédé de l'énergie au lieu d'en absorber.

Pour que ceci soit possible, il faut évidemment que l'état initial de la molécule soit un état excité. Compte tenu de la loi de Boltzmann, cette éventualité est beaucoup moins probable que les précédentes. Ceci explique que les raies anti-Stokes, qui correspondent à ces transitions, soient beaucoup plus faibles.

MÉCANISME DE LA PRODUCTION DES RAIES RAMAN

Le raisonnement qui a été fait dans le précédent paragraphe, ne rend pas compte tout à fait de la réalité, puisqu'il fait appel à un niveau d'énergie fictif, non quantifié. Il y a donc lieu de préciser par quel moyen se produit l'absorption d'énergie en spectroscopie Raman.

Le fait que la radiation excitatrice possède une énergie $h\nu_0$ importante, a pour corollaire que sa fréquence ν_0 est très grande, et de beaucoup supérieure à celle d'un mouvement de vibration d'une molécule. Il en résulte que seuls les électrons, du fait de leur masse très faible, peuvent se mouvoir suffisamment vite pour se trouver en phase avec les variations de champ électrique de cette vibration lumineuse. Le phénomène intime doit donc intéresser les électrons. Mais il faut rappeler que la fréquence ν_0 ne correspond pas à une raie d'absorption du spectre électronique de la molécule, et, d'autre part, que la différence des fréquences excitatrice et diffusée qui, seule, est caractéristique de la molécule, est de l'ordre des fréquences de vibration des atomes d'une molécule. Ce double caractère des spectres Raman s'explique à l'aide de la notion de polarisabilité d'une molécule.

Notion de polarisabilité

• **Polarisabilité d'un atome.** — Un atome isolé, en l'absence de tout champ électrique extérieur, est tel que les électrons se répartissent uniformément autour du noyau, donc avec une densité qui présente une symétrie sphérique.

Le moment électrique dipolaire permanent d'un tel système est ainsi nul, puisque la résultante des charges négatives, comme la charge positive se trouve au centre de la sphère. Lorsque l'atome est placé dans un champ électrique $\vec{E}$, les électrons tendent à se déplacer dans le sens opposé à celui du champ. Les noyaux de leur côté, sont attirés dans le sens du champ puisqu'ils sont chargés positivement. Ceci produit donc une dissymétrie de l'atome, et la charge négative ne se trouve plus localisée au même endroit que la charge positive. Il en résulte donc un moment électrique induit $\vec{M}$. Dans le cas d'un champ électrique oscillant, comme celui d'une vibration lumineuse, visible ou ultraviolette, les électrons, plus mobiles du fait de leur faible inertie, se déplacent, tandis que le noyau, du fait de son inertie et de la fréquence rapide des variations, reste pratiquement immobile. Il y a production d'un moment électrique induit, oscillant, dont la périodicité est identique à celle du champ électrique de la radiation lumineuse. L'existence de ce moment électrique entraîne la possibilité d'absorption d'énergie par l'atome.

La polarisabilité α est définie par

$$\alpha = \frac{\vec{M}}{\vec{E}}$$

Dans ce cas simple les vecteurs $\vec{M}$ et $\vec{E}$ sont parallèles.

• **Polarisabilité d'une molécule.** — Comme dans le cas d'un atome isolé, on observe, sous l'influence d'un champ électrique, l'apparition d'un moment dipolaire induit. Si le champ initial est oscillant, les variations de ce moment provoquent également un champ électrique induit. Mais, dans une molécule, et même en l'absence de tout champ électrique extérieur, existent déjà des attractions mutuelles entre électrons d'un atome et noyau d'un atome voisin. Il y a donc dans ce cas, même pour une molécule supposée au repos (sans vibration ni rotation), et en dehors de tout champ électrique, un moindre degré de symétrie électronique que dans l'atome isolé. Il résulte de ce fait que le moment électrique $\vec{M}$, n'est plus nécessairement parallèle au champ électrique initial provenant de la vibration lumineuse.

Le moment électrique induit de fréquence ν_0 , identique à celle de la vibration lumineuse, doit être exprimé par $\vec{M}$ tel que

$$M^2 = M_x^2 + M_y^2 + M_z^2$$

où M_x , M_y , M_z sont les composantes de ce moment dans les trois directions de l'espace. La polarisabilité est de la même façon exprimée grâce à trois composantes α_x , α_y et α_z *.

* L'expression mathématique correspond à un tenseur

$$\alpha = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix}$$

A la variation de deux de ces composantes, correspond une courbe fermée puisque la variation est périodique. Cette courbe est dans le cas le plus général une ellipse. De même à la combinaison de ces trois valeurs correspond une surface fermée. Cette représentation mathématique peut prendre différentes formes selon les molécules. Ainsi pour une molécule telle que CH_4 il s'agit d'une sphère (α possède une valeur constante pour n'importe quelle orientation). En revanche, pour la plupart des molécules, il est de forme allongée ou aplatie : c'est *l'ellipsoïde des polarisabilités*.

Influence des mouvements des atomes d'une molécule sur la polarisabilité

Les atomes d'une molécule subissent des vibrations (ou des rotations), qui influent sur l'attraction réciproque des électrons de l'un d'eux sur le noyau de l'autre, donc, sur le moment électrique induit et partant, sur la polarisabilité. Dans le cas le plus général, envisagé ci-dessus, ces variations de la polarisabilité se traduisent par une déformation de l'ellipsoïde. A cette déformation correspond une modification du moment électrique induit. Or l'absorption d'énergie par la molécule dépend de la variation de ce moment électrique (v. p. 57). Elle est d'autant plus forte que celle-ci est grande.

Si les déformations de l'ellipsoïde des polarisabilités, sont en phase avec le mouvement de vibration ou de rotation de la molécule, l'absorption d'énergie se produit avec la même fréquence que celle du mouvement, et permet ainsi d'entretenir celui-ci.

Cette absorption d'énergie, correspondant à un quantum $h\nu$ de l'ordre de grandeur de l'énergie de vibration ou de rotation, se traduit par l'émission de raies lumineuses de fréquence ν_A différentes de ν_0 .

RÈGLES DE SÉLECTION VIBRATIONS ACTIVES EN SPECTROMÉTRIE RAMAN

Pour qu'une vibration soit active en spectrométrie Raman, il faut qu'elle provoque une variation de la polarisabilité de la molécule, et donc du moment électrique induit. Cette variation n'entraîne pas obligatoirement l'existence d'un moment électrique dipolaire permanent dans la molécule qui, comme cela a été mentionné page 58, est nécessaire à l'absorption en spectrométrie infrarouge. Bien au contraire, il existe, dans le cas de molécules présentant un centre de symétrie, un principe *d'exclusion mutuelle en absorption infrarouge et Raman*.

Dans ce cas, la vibration symétrique d'une molécule, comme celle d'anhydride carbonique, n'entraîne l'apparition d'aucun moment dipolaire permanent et est donc inactive en infrarouge.

Par contre, l'éloignement et le rapprochement périodique des deux atomes latéraux (fig. 23 p. 58) entraîne une variation de la polarisabilité. Cette vibration symétrique est donc active en Raman.

Dans le cas d'une vibration antisymétrique (ou asymétrique) de valence, la distance entre les deux atomes latéraux ne varie pas, et les variations dues au mouvement de l'atome central sont égales et de sens opposés en fonction du temps, au cours d'une même période T . Elles s'annulent donc, comme le montre les deux cas a et b de la figure 24 qui diffèrent environ d'une demi-période, et où la polarisabilité a la même valeur pour les deux cas. Il n'y a donc pas de variation sensible de la polarisabilité, et la vibration qui est active en infrarouge, est interdite en Raman.

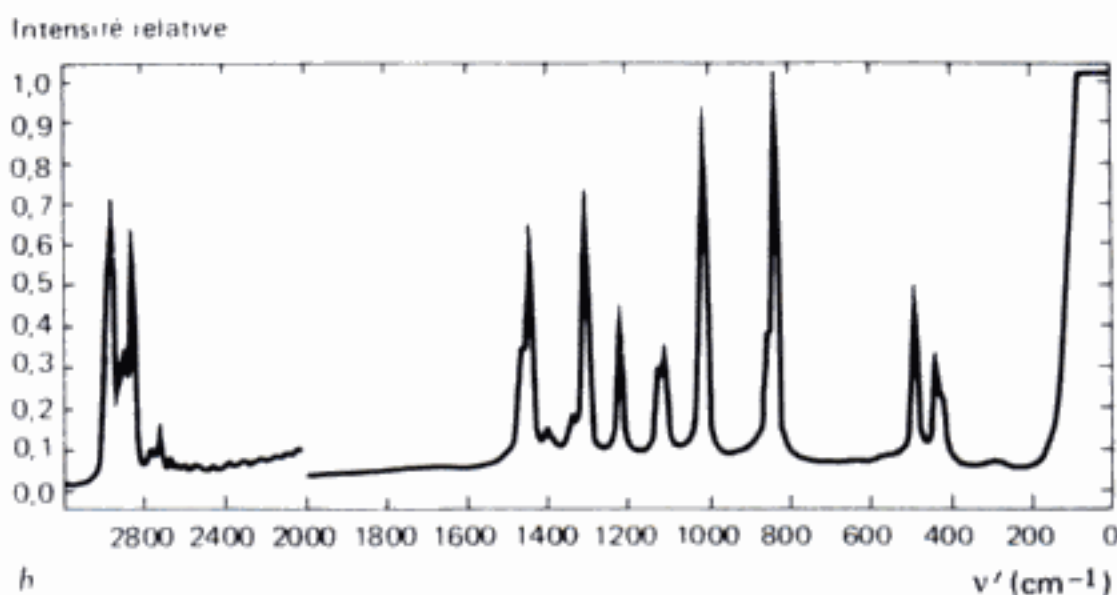
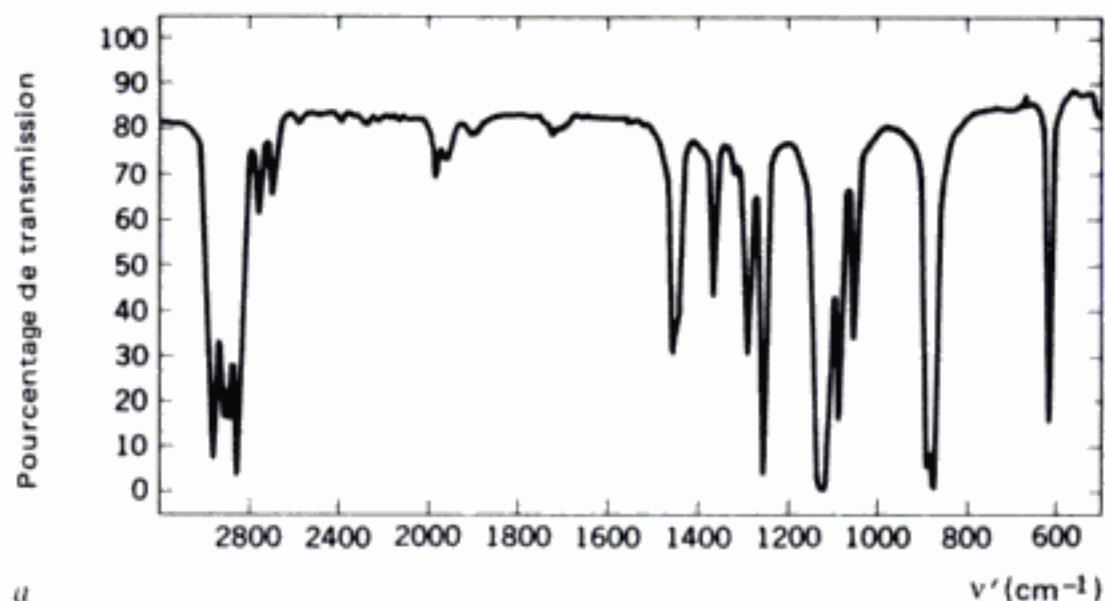


FIG. 40. — Spectre infrarouge (a)
et spectre Raman (b) (laser) du dioxanne.

Il est possible de déduire de cet exemple la règle suivante : *pour qu'une variation soit active en absorption infrarouge, il faut qu'elle soit antisymétrique par rapport au centre de symétrie. Pour qu'une vibration soit active en spectrométrie Raman, elle doit être symétrique par rapport au centre.*

Il s'agit donc d'une *exclusion mutuelle* dans le cas précis de molécules présentant un centre de symétrie. Mais, même dans le cas de molécules non symétriques, les spectrométries infrarouge et Raman sont des techniques

complémentaires, qui permettent de connaître la molécule, de deux points de vue différent. La figure 40 montre ainsi les spectres infrarouge et Raman du dioxanne. On observe un certain nombre de raies communes, mais aussi des raies qui existent seulement en Raman ($1\,220\text{ cm}^{-1}$) ou seulement en infrarouge (620 cm^{-1}).

Il est possible d'opérer avec une lumière incidente polarisée. Dans ce cas, les vibrations totalement symétriques, toujours actives en Raman donnent des raies polarisées souvent intenses; les autres types de vibration s'ils sont actifs en Raman conduisent à des raies dépolarisées.

NOTIONS D'APPAREILLAGE

La difficulté principale en spectrométrie Raman provient de la très faible intensité diffusée, qui est de l'ordre de moins de 0,01 % de l'intensité incidente, et de la nécessité d'avoir une lumière strictement monochromatique, pour éviter la superposition de plusieurs spectres, correspondant chacun à une lumière de fréquence donnée.

Il faut donc à la fois, obtenir une source très puissante, et un détecteur très sensible. En outre, l'intensité du spectre augmente avec la fréquence de la radiation incidente, et il est donc intéressant de choisir une lumière de petite longueur d'onde, mais il y a un risque de destruction de la molécule par un photon trop énergétique (ultraviolet) (v. p. 107).

On choisit donc en pratique, soit une source à arc au mercure dont on isole la radiation de longueur d'onde $\lambda = 435,8\text{ nm}$, soit de plus en plus une source laser.

Le système de détection, qui a été longtemps photographique, fait appel actuellement à des photomultiplicateurs.

En effet la lumière utilisée est constituée de photons suffisamment énergétiques pour permettre l'utilisation de l'effet photoélectrique.

L'intérêt de la spectrométrie de diffusion Raman a été considérablement accru par l'utilisation de sources laser, qui ont remplacé les lampes à arc utilisées autrefois.

Ces sources laser donnent en effet une radiation strictement monochromatique et de très forte intensité, qui permet l'obtention d'une lumière diffuse suffisante pour se prêter à des mesures quantitatives, après amplification par photomultiplication. Le choix des rayonnements utilisables est assez large et va de l'ultraviolet au proche infrarouge. A titre d'exemple, le laser à gaz hélium-néon fréquemment utilisé donne une radiation de longueur d'onde $632,8\text{ nm}$.

L'apparition de systèmes de détection constitués d'un grand nombre de photodiodes (détection multicanal) (v. p. 128) a permis, en outre une amélioration considérable de la sensibilité et de la rapidité de mesure.

APPLICATIONS DE LA SPECTROMÉTRIE DE DIFFUSION RAMAN

Cette méthode, fondée sur la diffusion, ne nécessite pas comme l'infrarouge, un conditionnement particulier des échantillons (pastilles, films). Elle présente en outre l'avantage d'être non destructive, puisque la lumière utilisée située dans le domaine visible entraîne des risques négligeables d'interactions photochimiques.

Avec les appareils actuels, l'utilisation d'un faisceau de lumière cohérente dont la section peut ne pas dépasser quelques micromètres carrés, permet d'obtenir une analyse précise sur de très petits échantillons.

Les domaines d'application sont très variés. A titre d'exemple, sont réalisables aussi bien l'identification de microinclusions dans des pierres précieuses que la détermination de la structure locale et de l'état de cristallinité de polymères (matières plastiques) ou que l'analyse d'échantillons biologiques. Dans ce dernier cas, il est possible d'obtenir le spectre du contenu d'organites intracellulaires (mitochondries) et ainsi d'identifier les substances qui y sont présentes, comme par exemple les métabolites d'un médicament.

D'autre part, la possibilité des mesures en un temps très court, de l'ordre de la nanoseconde et même de la picoseconde, permet l'étude des molécules ou d'états transitoires apparaissant au cours d'une réaction chimique.

Enfin, le flux lumineux correspondant à une raie Raman caractéristique d'une substance donnée est directement proportionnel au nombre de molécules par unité de volume. Cette constatation permet d'accéder à une estimation quantitative, si l'intensité lumineuse diffusée est suffisamment importante.

Microsondes Raman

L'utilisation d'une détection multicanal (v. p. 129) peut permettre l'acquisition d'un grand nombre d'informations et conduire ainsi à la détermination des spectres de diffusion Raman d'un grand nombre de zones d'un échantillon.

Il est ainsi possible non seulement d'identifier les substances présentes dans chacune de ces zones, mais également de visualiser leur position dans l'échantillon. En effet, la mesure du flux lumineux émis, à une longueur d'onde correspondant à une raie du spectre d'une substance donnée, permet grâce à un système d'amplification, d'obtenir une image de l'échantillon sur laquelle apparaissent lumineuses les seules zones où se trouvent les molécules considérées.

Une observation à plusieurs longueurs d'onde du spectre, permet d'éliminer d'éventuelles interférences.

CHAPITRE VII

SPECTRES ÉLECTRONIQUES

Les méthodes spectroscopiques dans l'ultraviolet et le visible sont d'utilisation déjà anciennes. Elles mettent en jeu de même que la spectrométrie de fluorescence, des modifications dans la répartition électronique des molécules.

Le spectre d'absorption électronique correspond à une interaction entre une radiation électromagnétique qui fournit de l'énergie et la matière qui transitoirement absorbe cette énergie. L'énergie correspondant à ces transferts est relativement importante, vis-à-vis de celle mise en jeu en spectroscopie infrarouge. En effet, les électrons ayant une inertie très faible, leurs mouvements peuvent se trouver en phase avec les variations du champ électrique correspondant à des radiations de fréquences élevées. Ces échanges interviennent par quantum d'énergie (v. pp. 5 et 7).

Dans le domaine des spectres électroniques la notation en longueur d'onde (λ) est habituellement utilisée.

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Pour qu'il y ait absorption d'énergie par la matière, il est donc nécessaire que les quanta d'énergie associés à la radiation correspondent à la différence entre deux niveaux énergétiques possibles de la molécule irradiée. En réalité cette condition n'est pas suffisante car certaines transitions ont une probabilité nulle (ou très faible) d'intervenir (transitions interdites) alors que d'autres ont au contraire une grande probabilité de se réaliser (transitions permises). Cela correspond à des « règles de sélection ». Ce chapitre se rapporte essentiellement aux phénomènes mettant en jeu des radiations de longueur d'onde comprises entre environ 200 et 850 nm.

Il a été montré (v. p. 60) qu'à un moment donné une molécule possède une énergie « moléculaire » (E) qui peut être décomposée selon le principe de Born et Oppenheimer en trois types d'énergie : énergie électronique (E_{el}), énergie de vibration (E_v) et énergie de rotation (E_r).

$$E = E_{el} + E_v + E_r$$

Du point de vue quantitatif, l'énergie électronique provenant du changement d'orbitale d'un électron correspond à une mise en jeu d'énergie de l'ordre

d'une centaine de kilocalories par mole; l'énergie mise en jeu (v. p. 61) par les phénomènes de vibration est environ cent fois moins élevée (de l'ordre de $1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Il est possible de calculer ces quantités d'énergie en fonction de la longueur d'onde.

N étant le nombre d'Avogadro ($6,023 \cdot 10^{23}$), l'énergie exprimée en $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$ est donnée par l'expression :

$$E = \frac{hcN}{\lambda} = \frac{6,6256 \times 10^{-34} \times 299,79 \times 10^6 \times 6,023 \times 10^{23}}{\lambda}$$

et en $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($1 \text{ kcal} = 4,18 \times 10^3 \text{ J}$)

$$E = \frac{28,62 \times 10^{-6}}{\lambda}$$

Pour une radiation infrarouge de longueur d'onde de $30 \mu\text{m}$ ($30 \cdot 10^{-6} \text{ m}$) :

$$E = 4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (\simeq 1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1})$$

Pour une radiation ultraviolette de longueur d'onde de 200 nm ($0,2 \cdot 10^{-6} \text{ m}$) :

$$E = 600 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (\simeq 150 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1})$$

Pour une radiation visible de longueur d'onde de 600 nm ($0,6 \cdot 10^{-6} \text{ m}$) :

$$E = 200 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (\simeq 50 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1})$$

L'énergie de rotation est très faible et les différents niveaux ne sont pas équidistants. E_r varie en fonction de $J(J+1)$ (v. p. 67). L'énergie de vibration est plus importante mais encore faible et les différents niveaux sont équidistants (v. p. 75).

L'énergie électronique est très élevée et les niveaux sont équidistants. A chaque niveau électronique correspond des niveaux de vibration et à chaque niveau de vibration correspond des niveaux de rotation selon le schéma classique (fig. 25).

Une molécule ne recevant pas d'énergie se trouve au niveau fondamental. Lors de l'irradiation, l'énergie moléculaire augmente et selon la quantité d'énergie fournie, un niveau de rotation, un niveau de vibration, correspondant au niveau électronique fondamental, ou le premier niveau électronique excité (ou un des niveaux de rotation ou de vibration de celui-ci) est approvisionné.

Il est également concevable d'approvisionner le deuxième niveau électronique excité mais, dans ce cas, la quantité d'énergie absorbée est considérable et une rupture de la molécule est possible.

Les spectres électroniques mettent en jeu des transferts d'énergie entre le niveau fondamental et, en général, le premier niveau électronique excité.

- **Échanges d'énergie en spectrométrie : fluorescence — phosphorescence.** — Lorsqu'une radiation lumineuse est absorbée, le niveau énergétique de la molécule augmente et l'énergie absorbée est d'autant plus grande que la longueur d'onde de la radiation est faible

$$\left(E = \frac{hc}{\lambda} \right)$$

Si l'énergie fournie est suffisamment grande, il est possible d'approvisionner le premier niveau électronique excité, ou plus généralement un niveau de vibration-rotation de celui-ci.

Cette transition se réalise en un temps très court de l'ordre de 10^{-15} sec. Cet état excité est instable et l'énergie moléculaire diminue faiblement pour retomber au premier niveau électronique excité. Cette conversion se réalise encore très rapidement dans un temps de l'ordre de 10^{-11} sec. Ceci correspond à une faible dissipation d'énergie (sous forme de chaleur) due aux déformations de la molécule ou aux chocs avec les molécules du solvant.

La molécule est encore dans un état excité donc instable et ne peut s'y maintenir que pendant un temps très court de l'ordre de 10^{-8} secondes.

Pour revenir à l'état fondamental, elle élimine l'énergie acquise selon plusieurs processus.

- **Chocs avec les molécules voisines.** — L'agitation constante entraîne des chocs avec les molécules du solvant ou d'autres solutés. Il se produit ainsi des échanges d'énergie entre les molécules, mais également des mouvements importants au sein même de la molécule excitée, au niveau des chaînes aliphatiques. Classiquement, pour des solutions peu concentrées, on estime que le nombre de collisions est de l'ordre de 10^4 en 10^{-8} secondes. Si le milieu n'est pas trop dilué, le nombre de collisions est tel que la totalité de l'énergie peut être dissipée pour ce phénomène. C'est le cas général.

- **Fluorescence.** — En raison d'une structure plus rigide de la molécule (cyclisation) l'énergie absorbée ne peut plus être entièrement éliminée par les chocs pendant le temps imparti. La molécule doit alors rejeter l'énergie restante sous forme d'un photon. Cette émission lumineuse *immédiate* correspond au phénomène de fluorescence. La longueur d'onde de la lumière émise est fonction de l'énergie correspondant à la transition électronique; elle est, sauf exception, supérieure à celle de la lumière absorbée (loi de Stokes).

- **Phosphorescence.** — Il s'agit encore d'une perte d'énergie par émission lumineuse; mais dans ce cas, le phénomène est *différé* puisqu'il se produit en un temps relativement long de l'ordre de quelques secondes à plusieurs minutes.

La raison de ce retard d'émission réside dans le blocage de la molécule dans un état excité intermédiaire.

Pour expliquer la nature de cet état, quelques précisions sont nécessaires. Elles concernent les conditions dans lesquelles se produit la transition électronique. Dans une molécule, tous les électrons sont appariés sous forme soit de liaisons de valence, soit de doublets libres, de telle sorte que leurs spins soient antiparallèles (principe d'exclusion de Pauli). L'état correspondant à cette conformation pour une paire d'électrons donnée est dit *état singulet*.

L'absorption d'énergie lumineuse lors de l'excitation, fait passer l'électron dans une orbitale vacante plus énergétique. Le plus souvent, son spin ne varie pas au cours de cette transition et l'état correspondant aux deux électrons concernés demeure un état singulet. La déperdition d'énergie, selon les

modalités décrites précédemment, entraîne le retour de l'électron au niveau fondamental, où il peut sans difficulté reprendre sa place, puisque le principe de Pauli est respecté.

Il n'en est plus de même lorsque l'électron subit, à l'état excité, un changement de spin, généralement en perdant de l'énergie. Les deux électrons se trouvent alors présenter des spins de même sens; ils ne sont plus appariés et leur état n'est donc plus un état singulet.

Ils peuvent être tous les deux à l'état α ou à l'état β (v. p. 170) avec une faible probabilité de revenir à un état apparié. La multiplicité des situations étant ainsi de 3, l'état correspondant est appelé *état triplet*. L'énergie de cet état est inférieure à l'état singulet excité.

Le retour à l'état fondamental nécessite, au préalable, le changement de spin de l'un des deux électrons pour permettre leur appariement. La probabilité de ce changement est faible. C'est ce qui est classiquement exprimé en disant que la transition entre deux états de multiplicité différente (triplet-singulet) est interdite.

Il faut souligner que ce caractère n'entraîne pas une impossibilité absolue de cette transition, compte tenu de l'importance des énergies mises en jeu (v. p. 118) mais un retard très important de sa réalisation en raison de son caractère peu probable. Il est ainsi possible de comprendre la lenteur relative du processus. En outre le niveau énergétique de l'état triplet excité étant inférieur à celui de l'état singulet excité, la différence d'énergie entre l'état triplet excité et l'état fondamental est plus faible qu'entre l'état singulet excité et l'état fondamental. Il en résulte que la longueur d'onde de la lumière réémise par phosphorescence présente une longueur d'onde plus grande que celle qui aurait été réémise si la molécule avait donné lieu au phénomène de fluorescence.

SPECTROPHOTOMÉTRIE DANS L'ULTRAVIOLET ET LE VISIBLE

● **Généralités.** — Il n'existe pas de différence essentielle entre la spectrométrie dans le visible et dans l'ultraviolet.

Un électron sous l'influence d'une radiation lumineuse passe d'une orbitale à une autre, plus énergétique; il y a absorption d'énergie et donc, de lumière. Les énergies mises en jeu varient en fonction de la longueur d'onde et généralement on distingue :

1) L'ultraviolet lointain pour les longueurs d'onde comprises entre 100 et 190 ou 200 nm (énergies : 1 200 à 600 kJ . mol⁻¹). Dans cette région, l'oxygène et l'anhydride carbonique de l'air absorbent les radiations; il en est de même pour le verre et le quartz. Les mesures nécessitent des appareils spéciaux : il faut opérer en atmosphère d'azote : ce type de spectroscopie n'est pas utilisable de manière courante.

2) L'ultraviolet proche pour les longueurs comprises entre 200 et 400 nm (ou 350 nm si l'on considère l'appareillage et non pas l'aspect physiologique) (énergies : 600 à 300 kJ . mol⁻¹). A ces longueurs d'onde le verre absorbe,

mais l'air et le quartz sont transparents. Il est possible d'opérer avec du matériel en quartz sans autre précaution spéciale. Des mesures dans cette partie du spectre sont couramment utilisées en analyse.

3) Le visible pour les longueurs d'onde comprises entre 350 (ou 400) et 800 nm (énergies : 300 à 150 kJ . mol⁻¹). A ces longueurs d'onde le verre n'absorbe plus et cette zone correspond sensiblement aux radiations détectées par l'œil humain.

En pratique courante on opère, dans l'ultraviolet proche et le visible 190 à 800 nm.

Rappels sur la structure électronique des molécules diatomiques

Avant d'envisager les différentes transitions exploitables en spectrométrie ultraviolette pour les molécules de structure relativement complexes, il est nécessaire d'étudier succinctement la structure électronique des molécules en prenant l'exemple le plus simple d'une molécule diatomique.

Trois principes généraux régissent le remplissage des orbitales :

1) l'orbitale la moins énergétique est remplie en priorité;

2) deux électrons au maximum sont appariés par orbitale;

3) sur les orbitales dégénérées, deux électrons peuvent être non appariés : selon la méthode de LCAO (linear combination of atomic orbitals), l'orbitale d'une molécule diatomique est habituellement représentée par la somme (ou la différence) de deux orbitales atomiques de fonction d'onde : ψ_1 et ψ_2 . Par exemple dans l'atome d'hydrogène qui est constitué d'un proton et d'un électron, ce dernier se trouve sur une orbitale 1 S et la fonction d'onde est positive.

Si l'on rapproche deux atomes d'hydrogène pour former la molécule H₂, il y a mise en commun des deux électrons de chacun des atomes et recouvrement des deux orbitales pour donner par fusion une orbitale moléculaire qui peut être représentée par un ellipsoïde symétrique. Il y a apparition d'une liaison interatomique par augmentation de charge entre les noyaux. Cette structure correspond donc à une orbitale dite *liante* qui est notée 1 σ .

Il y a au cours de la formation de la molécule, libération d'énergie, et l'« énergie moléculaire » est inférieure à l'« énergie atomique ».

Selon la méthode LCAO, on peut écrire :

$$\psi_{H_2} = \psi_{1s} + \psi_{1s'}$$

ψ_{H_2} étant la fonction d'onde correspondant à la molécule, ψ_{1s} et $\psi_{1s'}$ étant les fonctions d'onde de chacun des atomes.

Par opposition au cas précédent, il existe une autre possibilité dans laquelle, tout en préservant l'existence de la molécule, la répartition des charges est différente. L'orbitale moléculaire étant, en effet :

$$\psi_{H_2} = \psi_{1s} - \psi_{1s'}$$

les deux orbitales s'annulent entre les noyaux et la charge y est donc nulle. En revanche, la charge est maximale à l'extérieur de ceux-ci.

Une telle orbitale est dite *antiliante*. Elle respecte toujours la symétrie axiale et de ce fait doit être représentée par le même symbole que la précédente.

Cependant, dans ce cas, le niveau énergétique est obligatoirement supérieur à celui de l'orbitale liante. Ce fait est indiqué par une astérisque placée en exposant.

L'orbitale antiliante est donc symbolisée par $1\sigma^*$.

Il est important de souligner que le niveau énergétique de l'orbitale antiliante est inférieur à celui correspondant à 2 atomes séparés puisque la liaison interatomique créant la molécule persiste. La probabilité de trouver un électron en un point particulier (et donc autour des noyaux) est dans tous les cas égale à ψ^2 .

Transitions électroniques

Elles correspondent pour chacune d'elles au passage d'un électron d'une orbitale liante, à une orbitale antiliante et donne lieu à une absorption d'énergie sous forme d'une radiation lumineuse d'une longueur d'onde déterminée; il est évident que l'environnement (nature des groupements substituants portés par les atomes impliqués) aura un retentissement plus ou moins important sur les niveaux énergétiques correspondant à cette transition.

● **Définitions — Vocabulaire.** — Il est nécessaire de rappeler la signification des principaux termes utilisés dans ce chapitre.

L'effet *bathochrome* correspond à un déplacement du maximum d'absorption d'une bande vers des longueurs d'onde plus grandes alors que le phénomène inverse correspond à un effet *hypsochrome*.

L'effet *hyperchrome* correspond à l'augmentation du coefficient d'extinction molaire au maximum d'absorption alors que l'effet *hypochrome* correspond à l'effet inverse.

● **Rappels sur les différents types d'électrons périphériques et sur leur variation d'énergie au cours des transitions spectrales.** — **Électrons liants.** — Bien que cette étude soit applicable à toutes les liaisons covalentes appartenant à la chimie minérale ou organique, l'étude développée ci-dessous prend l'exemple de 2 atomes de carbone, constituants essentiels de la majorité des molécules d'intérêt thérapeutique ou biologique. La notion d'hybridation (Pauling) permet de considérer que les liaisons de l'atome de carbone correspondent à des orbitales mixtes (hybrides) provenant de la fusion des orbitales.

I^{re} MOLÉCULES SATURÉES. — Dans ces molécules le (ou les) atome de carbone s'unit à quatre atomes, les liaisons étant équivalentes; les quatre orbitales sont elles-mêmes équivalentes : il y a hybridation de l'orbitale s avec les orbitales p (hybridation tétragonale sp^3). Ces orbitales correspondent à la mise en commun de deux électrons provenant respectivement de chacun des atomes concernés par cette liaison.

L'angle de valence est de $109^{\circ}28'$, et le recouvrement des orbitales atomiques est excellent. Il en résulte que le niveau énergétique est très bas et que la liaison dite liaison σ est très stable. Pour faire passer un électron σ de son orbitale liante (état fondamental) au niveau excité (orbitale antiliante), l'énergie mise en œuvre doit donc être très importante : la transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$ est très énergétique et par conséquent, correspond à une longueur d'onde relativement basse. On admet généralement que pour la liaison C—C ou C—H le maximum d'absorption se situe aux environs de 130 nm. Cette transition n'est pas exploitable en analyse courante.

2° MOLÉCULES INSATURÉES. — Dans ces molécules l'atome de carbone peut s'unir à seulement trois atomes (double liaison) ou à deux atomes (triple liaison).

Dans le premier cas, l'orbitale s s'hybride avec deux orbitales p (hybridation trigonale sp^2) selon un mécanisme comparable à celui décrit pour l'hybridation sp^3 , en donnant trois liaisons σ .

La différence essentielle réside dans le fait que ces trois liaisons sont situées dans un même plan et que les angles de valence sont de 120° . Le recouvrement des orbitales atomiques est bon : pour ces trois liaisons σ le maximum d'absorption est comparable au précédent.

La troisième orbitale est pure : elle est située selon un axe perpendiculaire au plan formé par les axes des orbitales précédentes. Le recouvrement des orbitales p (de deux atomes de carbone voisins dans le cas d'une liaison C=C) est médiocre. Le niveau énergétique de cette liaison π est plus élevé que celui d'une liaison σ : la stabilité de la liaison π est moins grande que celle de la liaison σ .

Pour faire passer un électron π de son orbitale liante à une orbitale antiliante, l'énergie à mettre en œuvre est plus faible que celle mentionnée pour la transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$. L'énergie correspondant au premier niveau excité π^* est plus faible que celle du niveau excité σ^* .

La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est beaucoup moins énergétique que la transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Le maximum d'absorption se situe à des longueurs d'onde plus grandes. Pour une double liaison isolée, on admet que celui-ci se trouve à environ 170 nanomètres.

Dans le cas des liaisons acétyléniques (hybridation digonale sp) les maximums d'absorption sont comparables à ceux des liaisons éthyléniques.

Doubles liaisons conjuguées. — Lorsqu'une molécule possède plusieurs doubles liaisons non conjuguées, l'effet de résonance est négligeable du point de vue de la spectroscopie. Dans le cas où les doubles liaisons sont conjuguées, il apparaît une *délocalisation* des électrons et l'effet de résonance est important. Cet effet peut être apprécié en envisageant l'énergie correspondant à l'hydrogénation de doubles liaisons dans le cas de dérivés cycliques insaturés par exemple.

L'hydrogénation de la double liaison du cyclohexène met en jeu 119,5 (soit environ 120) kJ . mol⁻¹ et conduit au cyclohexane.

Théoriquement dans les mêmes conditions, le benzène qui possède 3 doubles liaisons devrait mettre en jeu pour son hydrogénation conduisant au cyclohexane :

$$119,54 \times 3 = 358,6 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}.$$

En réalité, l'expérience montre que cette hydrogénation nécessite $208,1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Le benzène possédant trois doubles liaisons conjuguées, un calcul simple montre que l'énergie de résonance est dans cette molécule égale à $150,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

$$E_{\text{résonance}} = 358,6 - 208,1 = 150,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}.$$

La conjugaison entraîne une modification importante en spectrométrie ultraviolette et visible.

On peut considérer qu'une molécule de butadiène est « constituée » de deux molécules d'éthylène. Il existe donc deux doubles liaisons auxquelles s'associent des électrons π et par conséquent deux niveaux fondamentaux π et deux niveaux excités π^* selon la figure 41. Il en résulte que la distance entre le niveau fondamental π_2 le plus élevé et le niveau excité π_3^* le moins élevé est plus faible que la distance entre les niveaux π fondamental et excité dans la molécule d'éthylène. Il en résulte que la transition est moins énergétique et que l'effet bathochrome est important. Il est admis qu'une double liaison conjuguée sur un dérivé éthylénique entraîne un effet bathochrome d'environ 30 à 50 nanomètres (v. p. 60).

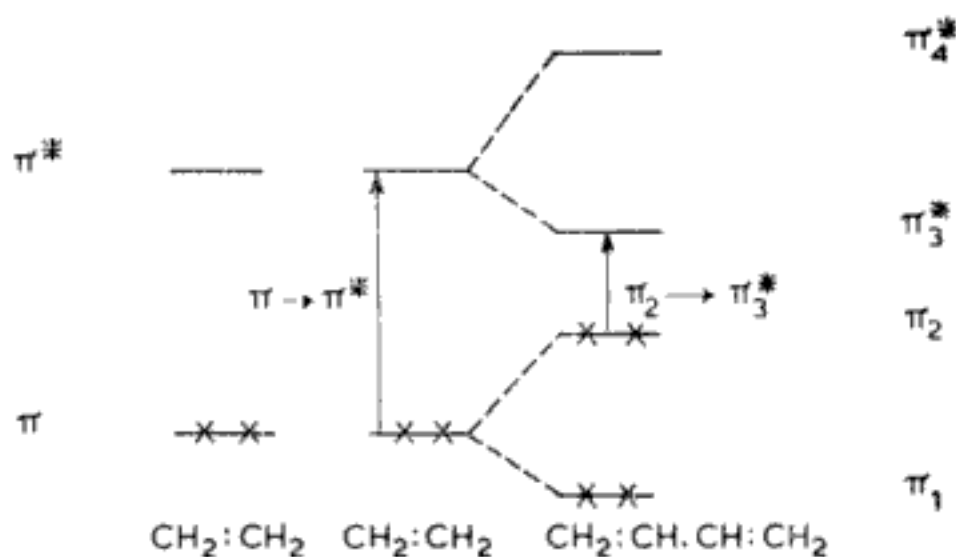


FIG. 41. - Représentation schématique des niveaux d'énergie dans l'effet de conjugaison.

Ainsi le butadiène présente un maximum d'absorption à 217 nm alors que l'éthylène a un maximum à 163 nm. Cette augmentation par double liaison conjuguée supplémentaire n'est valable que si la conjugaison n'est pas trop importante. Cet effet décroît si la conjugaison augmente. Toutefois, si le nombre de doubles liaisons conjuguées est suffisant, l'absorption peut se faire dans le visible. Ainsi le carotène est orange et le lycopène est rouge.

L'exemple classique est celui des diphénylpolyènes (fig. 42).

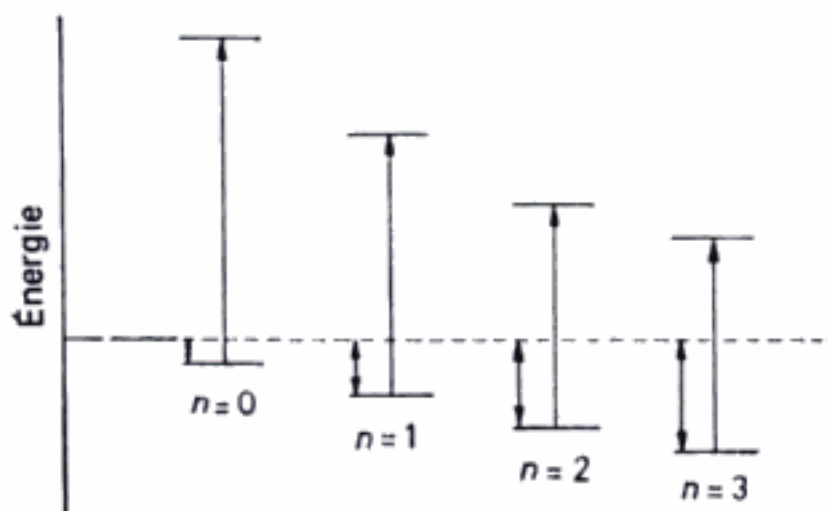


FIG. 42. — Effet de conjugaison pour les diphénylpolyènes.

Le coefficient d'extinction molaire augmente également de façon sensiblement linéaire.

Dérivés aromatiques. — Dans le benzène il existe trois doubles liaisons conjuguées et par conséquent six orbitales π possibles, trois à l'état fondamental et trois à l'état excité.

Les interactions électroniques modifient les énergies des états excités de sorte qu'en réalité, en tenant compte de ces interactions, le diagramme est le suivant (fig. 43).

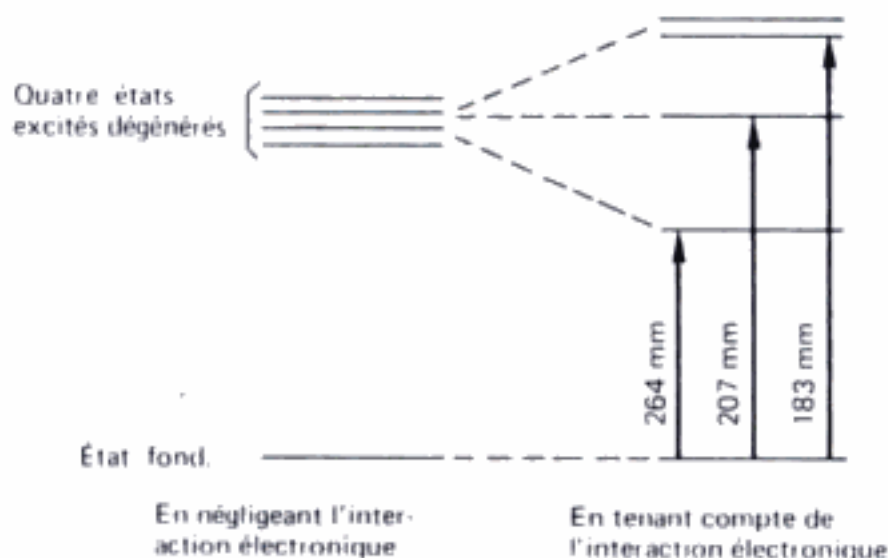


FIG. 43. — Diagramme énergétique du benzène (interactions électroniques).

Il en résulte trois transitions possibles correspondant aux bandes dont les maximums d'absorption sont les suivants :

$$\beta : 183 \text{ nm}, \quad p : 207 \text{ nm}, \quad \text{et} \quad a : 264 \text{ nm}$$

Les coefficients d'extinction sont les suivants :

$$\beta \simeq 47\,000 \quad p \simeq 7\,000 \quad a \simeq 220$$

Il existe également une quatrième bande, très peu intense, appelée bande τ à 340 nm.

Dans les homologues du benzène les bandes β et p sont toujours présentes mais subissent des effets bathochrome, alors que les bandes a et τ peuvent être absentes, l'effet bathochrome pour ces dernières étant également important. En règle générale, l'effet bathochrome est d'autant plus important que l'électronégativité du substituant augmente.

Règles de Woodward Fieser. — Dans la série des composés insaturés, Woodward a donné des règles empiriques qui, à la condition que les molécules ne présentent pas une structure trop complexe, et que les tensions ne soient pas trop importantes, permettent dans de bonnes conditions de prévoir à quelle longueur d'onde se trouvera le maximum d'absorption d'un composé.

A partir d'une molécule type, affectée d'une longueur d'onde de base, le calcul s'effectue en ajoutant des incréments variables selon les groupements fonctionnels substituants. Tableaux X, XI et XII.

Tableau X. — RÈGLES DE WOODWARD POUR LES CÉTONES α - β INSATURÉS.

<i>Valeurs de base :</i>		
cétone α - β insaturée acyclique ou sur un cycle à 6 C		215
— cétone α - β insaturée sur un cycle à 5 C		202
.. aldéhyde α - β insaturé		207
<i>Incréments :</i>		
— double liaison conjuguée supplémentaire		30
.. par reste alcoyle ou portion de cycle		
... en α		10
... en β		12
... en γ ou plus loin		18
groupements auxochromes		
OH	α	35
	β	30
OAcétyle	δ	50
		6
OCH ₃	α	35
	β	30
	γ	17
	δ	31
SR (β)		85
NR ₂ (β)		95
Cl	α	15
	β	12
Br	α	25
	β	30
n'importe quelle double liaison exocyclique		5
supplément pour l'homoannularité d'un diène		39

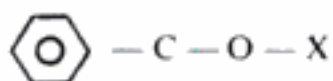
Tableau XI. — RÈGLE DE WOODWARD POUR LES DIÈNES CONJUGUÉS.

		(en nm)
Absorption de base du diène	Hétéroannulaire	
	ou aliphatique	214
	Homoannulaire	253

Incréments

— reste alkyle ou portion de cycle	5
— nature exocyclique de n'importe quelle double liaison	5
— double liaison supplémentaire conjuguée	30
— O—R ou Cl	5
— Br	3-10
— NR ₂	60
— S—R	30
— OCO-méthyle ou OCO-phényle	0

Tableau XII. — RÈGLES DE WOODWARD POUR LES DÉRIVÉS CARBONYLES CONJUGUÉS AU BENZÈNE.



Valeur de base :	(en nm)
X = alcoyle ou cycle	246
X = H	250
X = OH ou OR	230

Incréments pour un substituant R' sur le noyau

R'	para	ortho ou méta
alcoyle ou cycle	10	3
OH ou O-alcoyle ou O-cycle	25	7
O ⁻	78	m 20 o 11
Cl	10	0
Br	15	2
NH ₂	58	13
NHCOCH ₃	45	20
NHCH ₃	73	—
N(CH ₃) ₂	85	20

Électrons non liants. — Une molécule organique peut contenir des hétéroatomes possédant un (ou plusieurs) doublet électronique libre.

Dans le cas de l'oxygène il existe deux doublets électroniques libres (dont les électrons ne participent à aucune liaison) : ceux-ci sont des électrons s et p non hybridés dont les orbitales ont des axes perpendiculaires à celui de l'orbitale π .

L'exemple le plus simple est celui du formaldéhyde (fig. 44). Dans cette molécule les électrons σ assurent les liaisons C—H et une liaison C—O. L'autre liaison C—O est assurée par des électrons π .

Dans l'espace, l'orbitale des électrons σ assurant la liaison C=O a pour axe Ox, celle des électrons π , Oz. Les électrons des doublets libres appelés électrons n ont des orbitales qui ont pour axes respectivement Ox pour les électrons s symbolisés par n et Oy pour les électrons p symbolisés par n_p .

Au niveau fondamental les électrons n_s se trouvent à un niveau énergétique situé entre celui des électrons σ et celui des électrons π alors que les électrons n_p se trouvent à un niveau énergétique situé entre celui des électrons π et π^* .

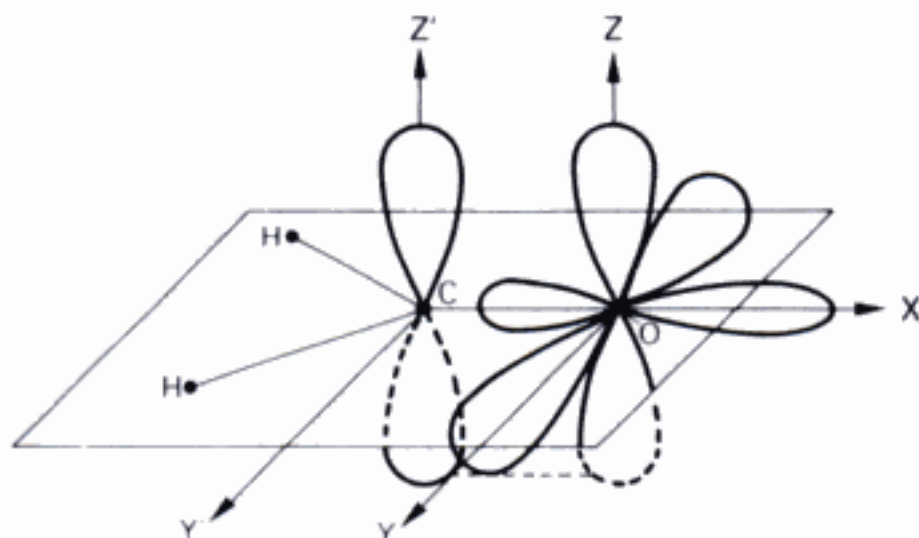
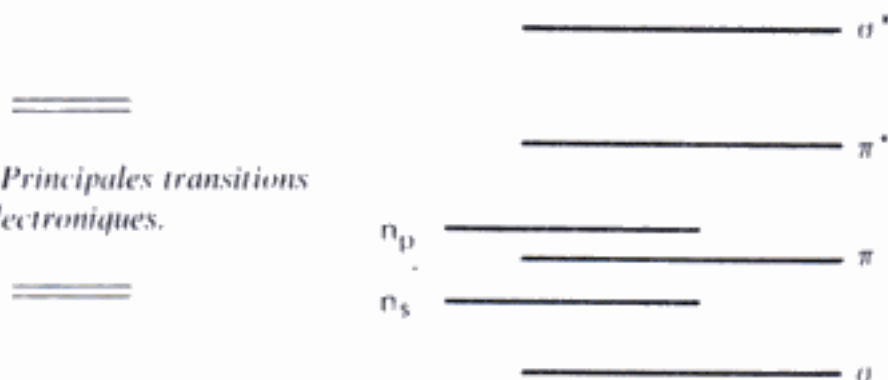


FIG. 44. — Principales liaisons dans le formaldéhyde.

A partir des électrons n quatre transitions sont théoriquement possibles : $n_s \rightarrow \pi^*$, $n_s \rightarrow \sigma^*$, $n_p \rightarrow \pi^*$ et $n_p \rightarrow \sigma^*$ (fig. 45).

La transition la moins énergétique correspond à la transition $n_p \rightarrow \pi^*$ dont la longueur d'onde correspondante est voisine de 270-280 nm. Les autres transitions correspondent à des longueurs d'onde situées dans l'ultraviolet lointain et ne présentent pas d'intérêt pratique.

FIG. 45. — Principales transitions électroniques.



Ces transitions $n \rightarrow \pi^*$ nécessitent le passage d'un électron n d'une orbitale d'axe Oy (ou éventuellement Ox) sur une orbitale π antiliante d'axe Oz; un changement d'axe est obligatoire pour que cette transition intervienne. Il s'agit donc en théorie d'une transition interdite. La transition a cependant une certaine probabilité en raison de la vibration de torsion de la molécule, mais cette probabilité est faible et le coefficient d'extinction molaire est en général faible (de l'ordre de 5 à 100 selon l'encombrement stérique de la molécule considérée)*.

Cette transition correspond à une bande souvent appelée bande R.

Ainsi, dans le cas du formaldéhyde on peut distinguer trois transitions :

1^o $\sigma \rightarrow \sigma^*$ de longueur d'onde voisine de 130 nm

2^o $\pi \rightarrow \pi^*$ de longueur d'onde voisine de 190 nm (Bande K)

3^o $n \rightarrow \pi^*$ de longueur d'onde voisine de 305 nm (Bande R).

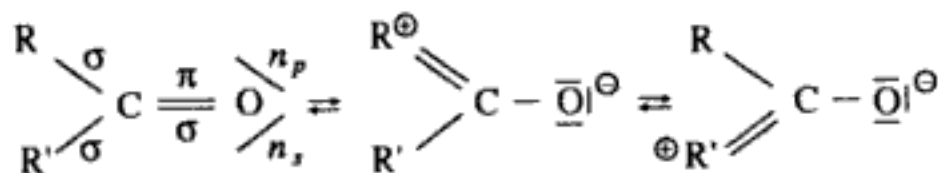
Seule la bande R peut être exploitable avec les spectrophotomètres classiques.

INFLUENCE DES SUBSTITUANTS. — La bande R peut subir un effet hypsochrome en raison de la mésomérie qui résulte d'un transfert de charge entre un groupement non saturé et une paire d'électrons libres (transition $n \rightarrow \pi^*$).

Le niveau fondamental des électrons n est peu affecté et le niveau énergétique π^* est plus élevé.

Il en résulte que la transition $n \rightarrow \pi^*$ est plus énergétique d'où l'effet hypsochrome marqué.

Un bon exemple est celui du formaldéhyde et de ses homologues. Le composé de formule générale $R-CO-R'$ est en équilibre avec ses formes mésomères suivant les réactions :



Les électrons π sont plus attirés par l'oxygène, en raison du caractère donneur d'électrons du groupement méthyle. Il résulte de cette attraction qu'ils sont moins libres de se déplacer, surtout au niveau antiliant où ils sont encore plus rapprochés de l'atome d'oxygène.

Ceci entraîne une élévation du niveau énergétique π^* et donc une baisse de la longueur d'onde correspondant à la transition $n \rightarrow \pi^*$.

Ainsi le formaldéhyde, pour lequel cet effet n'existe pratiquement pas puisque R et R' représentent des atomes d'hydrogène, présente un maximum d'absorption à 305 nm. En revanche, la présence d'un seul groupement méthyle

* On considère qu'une transition interdite a un coefficient d'extinction molaire inférieur à 10^4 ($\log \epsilon < 4$).

(acétaldéhyde) entraîne un effet hypsochrome de 15 nm ($\lambda = 290$ nm) et celle de deux groupements méthyle (acétone) donne un effet deux fois supérieur ($\lambda = 275$ nm).

On peut remarquer que cette mésomérie conduit parallèlement à une baisse du niveau σ^* de la liaison $\text{CH}_3-\text{C}=\text{}$, puisqu'il y a augmentation du volume dans lequel les électrons se meuvent, mais ceci n'a aucun intérêt pratique.

L'allongement de la chaîne aliphatique d'une cétone entraîne, en revanche, du fait du caractère donneur des autres chaînons méthyle et méthylène, un affaiblissement de la charge positive partielle portée par le carbone en α du carbonyle et donc une diminution de la mésomérie. Il en résulte donc un léger effet bathochrome par rapport à l'acétone. Les maximums d'absorption de différentes cétones sont les suivants : acétone : 275 nm, butanone : 278 nm, méthyl-2 pentanone : 283 nm.

Effets stériques. — Ces effets stériques peuvent augmenter ou diminuer les interactions électroniques ou éventuellement en apporter de nouvelles. Il est évident que l'effet de résonance est maximum si les deux systèmes qui interviennent sont coplanaires. Dans le cas contraire l'effet diminue. Ces effets sont très complexes mais il est possible de donner quelques règles générales.

Le passage de la forme *trans* à la forme *cis* entraîne un effet hypochrome et un effet hypsochrome. A titre d'exemple, dans le cas des deux isomères du stilbène (diphényl-1,2 éthylène) le dérivé *trans* présente un maximum à 295 nm ($\epsilon = 29\,000$) alors que le *cis* stilbène absorbe à 280 nm ($\epsilon = 10\,450$). Il peut apparaître éventuellement dans le cas de systèmes conjugués une bande supplémentaire vers les grandes longueurs d'onde.

Les modifications sont très importantes dans le cas de dérivés cycliques ou les tensions de cycle sont importantes.

Effets de solvant

Les effets de solvant sont très importants et on observe un élargissement des bandes avec l'augmentation de la polarité et de la constante diélectrique du solvant.

En règle générale les modifications sont d'autant plus importantes que l'interaction soluté-solvant est grande.

En solution dans un solvant apolaire (hexane) le spectre d'un composé est identique à celui observé en phase vapeur.

L'interaction soluté-solvant, en particulier la solvation, entraîne des modifications des niveaux énergétiques, aussi bien à l'état fondamental qu'à l'état excité. Plus l'interaction est grande, plus l'énergie est faible.

L'effet de solvant dépend donc de la nature du solvant, de la nature du soluté et de la nature de la bande.

• **Interactions dipole-dipole.** — L'interaction est d'autant plus grande que la polarité du solvant et sa constante diélectrique augmentent.

Pour les électrons π au niveau fondamental l'interaction est pratiquement nulle (ou très faible) et le niveau énergétique π n'est pas sensiblement modifié. A l'état excité, la molécule prend une certaine polarité et l'interaction avec le solvant entraîne une diminution de l'énergie du niveau π^* .

Il en résulte qu'en solvant polaire la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ (bande K) est moins énergétique qu'en milieu apolaire et il apparaît un effet bathochrome qui est relativement peu important.

Pour les électrons n l'interaction est importante du fait de la polarité des molécules. Le niveau fondamental correspond à une énergie beaucoup plus faible en milieu polaire qu'en milieu apolaire. Comme au niveau π^* l'effet est peu intense, la transition $n \rightarrow \pi^*$ (bande R) met en jeu une énergie plus importante en milieu polaire qu'en milieu apolaire : il apparaît un effet hypsochrome important. En effet, pour réaliser l'excitation, il faut fournir de l'énergie d'une part pour rompre la liaison de solvation et, d'autre part, pour réaliser la transition électronique (fig. 46).

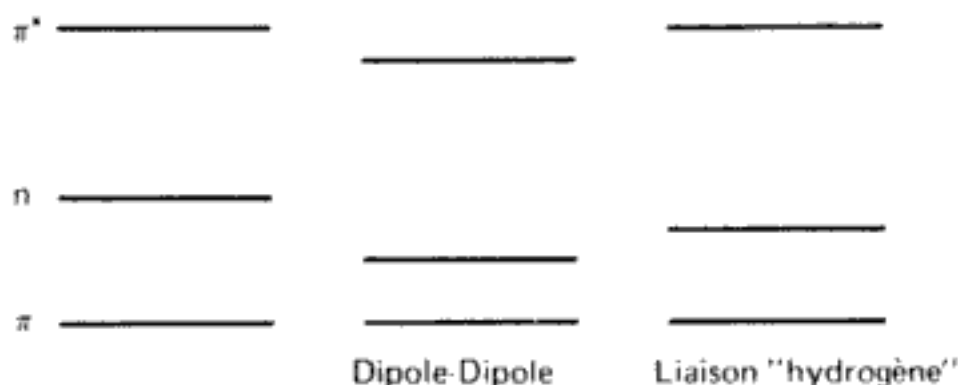
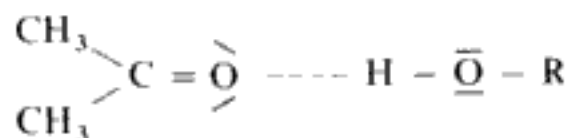


FIG. 46. — Effets de solvant.

● **Liaisons hydrogène.** — Les solvants susceptibles de contracter des liaisons hydrogène modifient sensiblement le spectre.

Ces liaisons hydrogène résultent de l'interaction entre un hydrogène d'un solvant (par exemple un alcool) et un doublet d'une orbitale n_p (par exemple l'acétone).



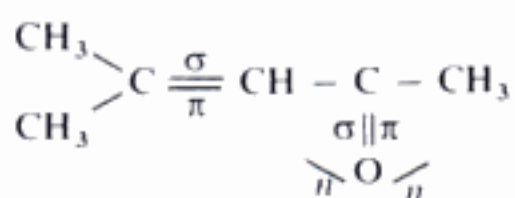
L'orbitale est stabilisée et l'énergie de liaison entraîne une diminution du niveau énergétique des électrons n .

La transition $n \rightarrow \pi^*$ (bande R) devient plus énergétique et il apparaît un effet hypsochrome.

Il faut remarquer que ces deux effets interviennent le plus souvent de façon concomitante et que le phénomène observé résulte de leur addition.

Il est possible à partir de l'effet de solvant de déterminer la nature d'une bande. Cet effet entraîne dans le cas des bandes K un effet bathochrome alors que les bandes R subissent un effet hypsochrome.

L'exemple de l'isopropylidèneacétone appelée couramment oxyde de mésityle est classique :



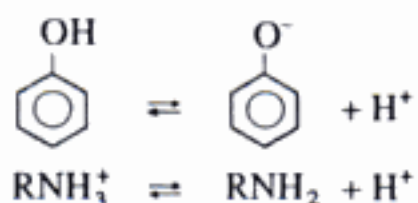
Cette molécule présente une bande K et une bande R et l'effet solvant est résumé dans le tableau XIII.

Tableau XIII. — EFFET DE SOLVANT SUR LE SPECTRE DE L'OXYDE DE MÉSITYLE (les nombres représentent la longueur d'onde, en nm, du maximum d'absorption).

<i>Solvant</i> <i>Transition</i>	<i>Iso-octane</i> $\epsilon = 2$	<i>Acéto-nitrile</i> $\epsilon = 36$	<i>Chloro-forme</i> $\epsilon = 5$	<i>Méthanol</i> $\epsilon = 33$	<i>Eau</i> $\epsilon = 78,5$
(Bande K)	230,5	234	237,5	237	242,5
(Bande R)	321	314	315,5	309	..

L'effet bathochrome sur la bande K est discret alors que l'effet hypsochrome sur la bande R est important.

• **Effet du pH.** — Les acides et les bases faibles sont en fonction de leur pK et du pH du milieu réactionnel à l'état moléculaire ou à l'état ionisé; par exemple pour le phénol ou pour une amine aromatique.



La forme moléculaire et la forme ionisée ont une structure électronique différente et des spectres différents. En effet, dans le cas d'un phénol la forme ionisée possède sur l'oxygène trois doublets électroniques non liants capables de ce conjuguer avec les électrons π du noyau. L'élévation de la mésomérie (et donc du volume dans lequel se déplacent les électrons) entraîne un effet bathochrome et hyperchrome par rapport à la forme moléculaire.

Au contraire, pour une amine aromatique la forme ionisée provient du don du doublet libre de l'azote à un proton. Ce doublet est donc moins disponible pour une conjugaison et la mésomérie de l'ensemble est diminuée. Ainsi, dans ce cas, c'est la forme ionisée qui absorbe à une longueur d'onde plus faible que la forme moléculaire.

● **Halochromie.** — Certaines molécules telles que les alcools sont susceptibles, par action d'acides de Lewis (v. Tome I) de conduire à des carbocations. Dans le cas où la molécule présente en outre des doubles liaisons conjuguées, la charge positive apparue attire les électrons voisins et entraîne de ce fait un déplacement de l'ensemble des doubles liaisons et par là-même une délocalisation de la charge positive. Il s'en suit une mésomérie, responsable de la diminution consécutive de la distance entre les niveaux d'énergie fondamental et excité. L'absorption lumineuse se produit donc pour des radiations de longueurs d'onde beaucoup plus élevées que ce qui est observé pour la molécule elle-même.

Les acides de Lewis initialement utilisés étant des halogénures (trichlorure d'antimoine, trichlorure d'aluminium) ce type de réaction porte le nom d'halochromie.

Un exemple classique est celui de la réaction du trichlorure d'antimoine sur la vitamine A, connue sous le nom de Carr et Price et conduisant à une coloration bleue se prêtant au dosage.

Le mécanisme en est le suivant (fig. 47) :

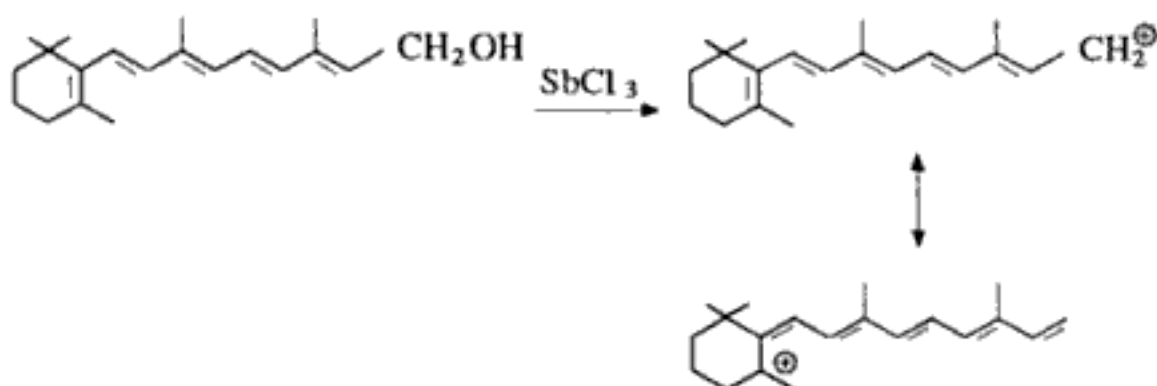


FIG. 47.

Mais il convient de souligner que l'acide sulfurique concentré peut aussi conduire à de nombreuses réactions colorées, notamment avec les stéroïdes, qui sont fondées sur le même principe.

Applications

Les applications de la spectroscopie ultraviolette sont nombreuses, et la littérature est riche en exemples.

Cependant, il est nécessaire de rappeler avant de décrire ces applications, quelques notions importantes.

● **Solvants.** — Chaque solvant possède un groupement fonctionnel qui entraîne un spectre caractéristique de celui-ci. Le spectre d'une solution d'une substance à étudier dans ce solvant va être la résultante des spectres du solvant et du soluté.

Il est évident qu'en réglant l'appareil sur le solvant pur, il est possible d'éliminer l'interférence de celui-ci.

Cependant, même si le coefficient d'extinction molaire du solvant est faible, l'extinction due à celui-ci est importante et il est nécessaire d'élargir les fentes de l'appareil pour obtenir une intensité lumineuse suffisante. Il en résulte une sélectivité d'autant moins bonne.

Pour cette raison, en fonction du maximum d'absorption, un solvant donné ne peut être utilisé au-dessous d'une longueur d'onde donnée.

Les limites d'utilisation des solvants usuels sont rassemblées dans le tableau XIV.

Tableau XIV. — LIMITES D'UTILISATION DES SOLVANTS.

	Nanomètres
Eau	205
Méthanol	210
Éthanol	210
Éther	210
Acétonitrile	210
Cyclohexane	210
Méthylcyclohexane	210
Butanol	210
Isopropanol	210
2,2,4-triméthylpentane	210
Tétrahydrofuranne	220
Dichlorométhane	235
Dichloro-1,2 éthane	235
Chloroforme	245
Tétrachlorure de carbone	265
N,N-diméthylformamide	270
Benzène	280
Tétrachloroéthylène	290
Pyridine	305
Acétone	330
Tribromométhane	360
Nitrométhane	380

● **Chevauchement des bandes.** — Un composé plurifonctionnel peut posséder plusieurs bandes, ou un composé contenant des impuretés peut présenter plusieurs bandes. L'importance relative de celles-ci conditionne l'aspect du spectre.

Si les deux bandes ont des maximums à des longueurs d'onde très voisines et des intensités très différentes, la bande la plus intense masquera totalement la bande la plus faible. Inversement, si les deux bandes ont des intensités voisines et des maximums à des longueurs d'onde suffisamment différentes les 2 maximums seront visibles.

Tableau XV. — GROUPEMENTS CHROMOPHORES SIMPLES.

<i>Chromophore</i>	<i>Longueur d'onde au maximum</i>	<i>Log ϵ</i>
C = C	190	3,5
(C = C) ₂	220	4,2
(C = C) ₃	260	4,6
(C = C) ₄	290	4,8
COOH	210	1,6
C $\equiv$ C	180	< 2
CONH ₂	210	2,2
C = N	190	3,7
C $\equiv$ N	170	< 2
C = O	280	1,3
C = S	330	1,0
N = N	370	1,2
N = O	660	1,3
NO ₂	270	1,2
ON = O	370	1,7
ONO ₂	270	1,2

La figure 48 montre l'aspect des spectres respectivement pour des intensités de chacune des bandes dans les rapports 1/5, 1/2 et 1/1 en fonction de la différence de longueurs d'onde des maximums.

Le solvant joue un rôle important puisque lorsque l'interaction solvant-soluté augmente, les bandes s'étalent et la résolution des pics est d'autant plus mauvaise.

• **Contrôle de pureté.** — La spectroscopie ultraviolette peut être utile dans le contrôle de la purification d'une substance.

a) Si le composé est transparent et si l'impureté à rechercher absorbe, l'extinction décroît en fonction de l'augmentation de la pureté. Le composé pur doit être transparent. Il faut utiliser des cellules épaisses (de 4 à 10 cm).

Par exemple, on peut rechercher le benzène dans l'éthanol, ou dans le cyclohexane, ou le sulfure de carbone dans le tétrachlorure de carbone.

b) Si le composé n'est pas transparent, et si l'impureté à rechercher n'absorbe pas ou absorbe peu, il suffit de déterminer le coefficient d'extinction molaire. Le coefficient augmente au cours de la purification et est maximum pour le composé pur.

• **Identification et détermination de structures.** — L'identification d'un composé peut être faite par étude du spectre (maximums, épaulements) mais il est évident que cette technique est peu précise et en général il est préférable à l'heure actuelle de s'adresser à d'autres méthodes. Cependant, la spectrométrie ultraviolette donne de bons résultats si le composé à étudier a un spectre à structure fine ou si l'on dispose d'un appareil à détection « multi canal » (v. p. 128).

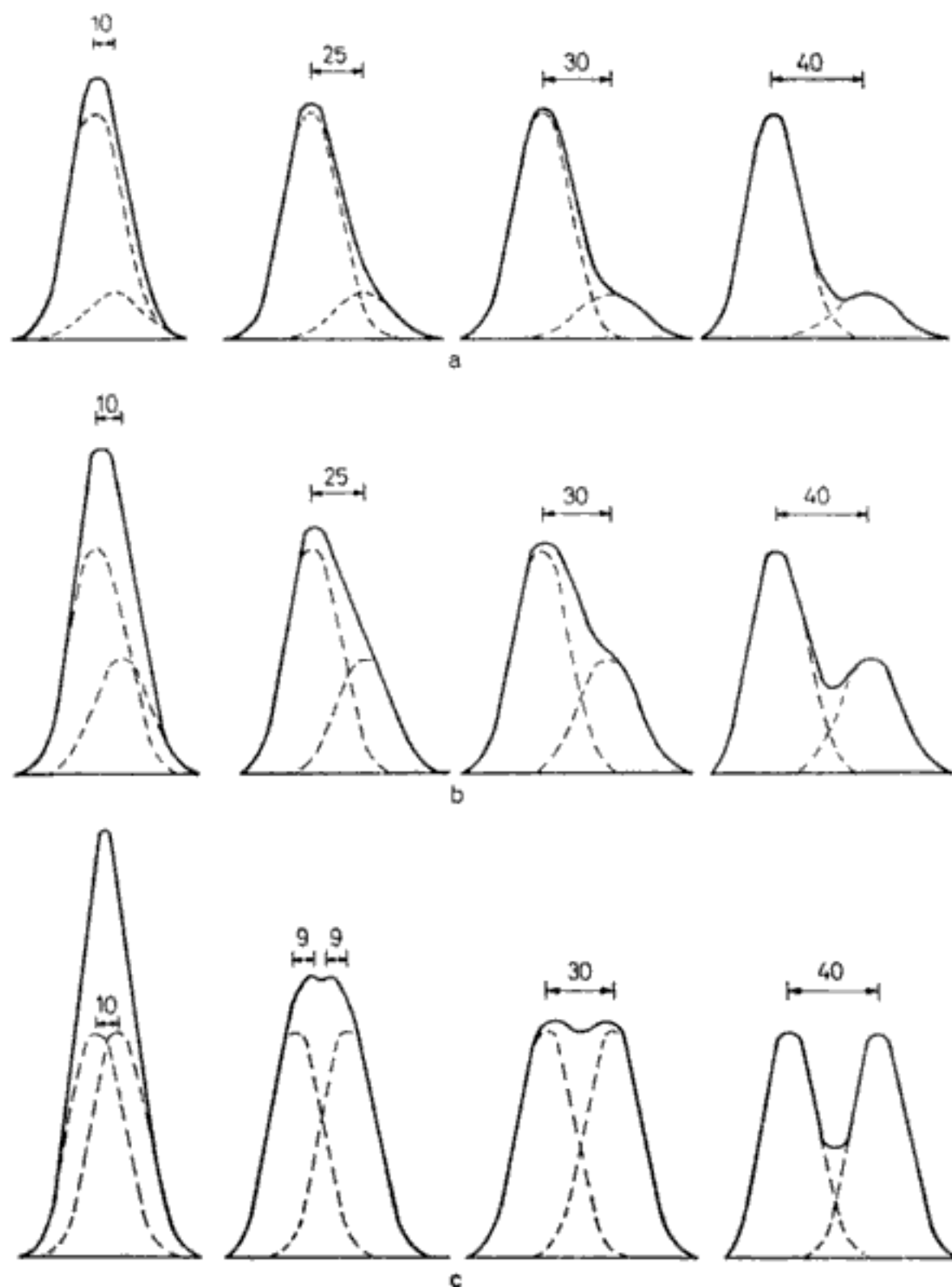


FIG. 48. -- Chevauchement des bandes en fonction de la concentration (nm).

Dans la détermination de structure, l'application des règles de Woodward peut conduire à des renseignements intéressants.

● **Analyse quantitative.** — La spectrométrie ultraviolette est très largement utilisée en analyse pharmaceutique, car c'est une méthode rapide et précise.

Il est recommandé d'opérer comparativement à une gamme d'étalonnage préparée avec une substance étalon. En l'absence de substance étalon le calcul peut se faire à partir du coefficient d'extinction molaire ou du coefficient d'extinction spécifique.

Cependant, il faut se rappeler que ces coefficients sont valables pour un solvant déterminé (interaction solvant-soluté), et que ce mode opératoire n'élimine pas les erreurs qui peuvent provenir d'un spectrophotomètre qui ne serait pas en parfait état.

Deux cas sont à envisager :

a) Le composé à doser est la seule substance qui absorbe à la longueur d'onde utilisée. Le dosage est simple et, si la substance présente plusieurs maximums, il est préférable de choisir la longueur d'onde correspondant au maximum de la bande la plus large.

En règle générale la concentration des solutions est de l'ordre de 0,5 à 10 mg pour 100 cm³.

b) Le composé à doser est en mélange avec une autre substance. Il est possible d'effectuer deux lectures à deux longueurs d'onde différentes A' et A'' nm.

A A' nm les coefficients d'extinction molaire sont ϵ'_1 et ϵ'_2 respectivement pour la substance 1 et la substance 2.

A A'' nm les coefficients d'extinction molaire sont ϵ''_1 et ϵ''_2 respectivement pour la substance 1 et la substance 2.

c_1 et c_2 étant les concentrations de chacune des substances, les extinctions D' et D'' à A' et A'' nm respectivement sont les suivantes :

$$D' = \epsilon'_1 c_1 + \epsilon'_2 c_2$$

$$D'' = \epsilon''_1 c_1 + \epsilon''_2 c_2$$

En choisissant A'' tel que les coefficients d'extinction ϵ''_1 et ϵ''_2 soient égaux

$$(\epsilon''_1 = \epsilon''_2 = \epsilon'') = \frac{D''}{\epsilon''} = c_1 + c_2$$

et en résolvant les équations :

$$c_1 = \frac{D''\epsilon'_2 - D'\epsilon''}{\epsilon''(\epsilon'_2 - \epsilon'_1)}, \quad c_2 = \frac{D''\epsilon'_1 - D'\epsilon''}{\epsilon''(\epsilon'_1 - \epsilon'_2)}$$

● **Détermination des pK_a .** — La forme ionisée et la forme moléculaire d'une base faible ou d'un acide faible possèdent des spectres différents. La proportion relative de chacune des formes est fonction du pH du milieu réactionnel selon la relation :

$$pH = pK_a + \log \frac{\text{base}}{\text{acide}}$$

Prenons l'exemple d'un acide faible qui, en milieu acide (rapport base/acide $\leq 10^{-2}$) est presque entièrement sous forme moléculaire, et en milieu relativement alcalin (rapport base/acide $\geq 10^2$) est essentiellement sous forme ionisée. La figure 49 représente les spectres de solutions de même concentration d'un acide (de pK_a de l'ordre de 5) à pH 2 (forme moléculaire pure), à pH 8 (forme ionisée pure) et à pH 5,5 où il existe un équilibre entre les deux formes, équilibre en relation avec le pK_a de l'acide étudié.

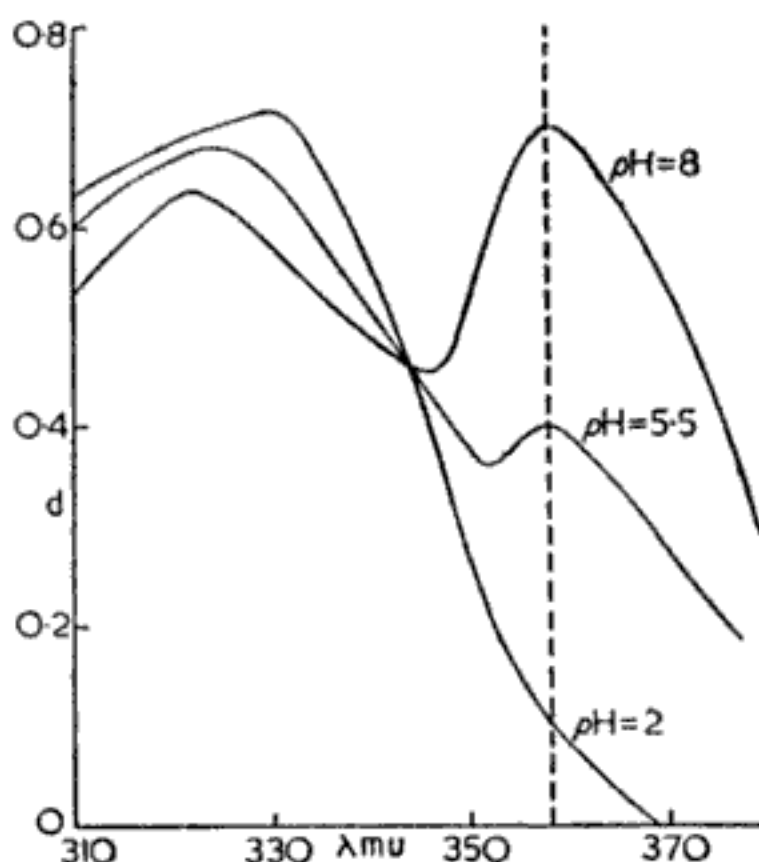


FIG. 49. — Détermination du pK_a d'un acide faible. Spectre de la forme moléculaire ($pH : 2$), de la forme ionisée ($pH : 8$) et du mélange des deux formes ($pH : 5,5$).

Pour déterminer le pK_a avec la meilleure précision, il est tout d'abord nécessaire de déterminer la longueur d'onde la plus favorable à la mesure : longueur d'onde où la différence des extinctions (absorbances) entre la forme ionisée et la forme moléculaire est la plus grande (dans l'exemple choisi : $\lambda = 358 \text{ nm}$).

On détermine à cette longueur d'onde les coefficients d'extinction molaire des formes ionisée ϵ_i et moléculaire ϵ_m par des mesures à des pH suffisamment acide ou alcalin et l'extinction d'une solution de cet acide de concentration c , à pH intermédiaire où les formes ionisée et moléculaire sont en équilibre (pH voisin du pK_a).

$$a = (c - x)\epsilon_m + x\epsilon_i$$

x étant la concentration en forme ionisée au pH choisi :

$$x = \frac{a - c\epsilon_m}{\epsilon_i - \epsilon_m} \quad \text{et} \quad c - x = \frac{c\epsilon_i - a}{\epsilon_i - \epsilon_m}$$

$$pK_a = pH - \log \frac{x}{c - x} = pH - \log \frac{a - c\epsilon_m}{c\epsilon_i - a}$$

$a_m = c\epsilon_m$ est l'extinction de la solution de concentration c à $pH \leq 2$ et $a_i = c\epsilon_i$ est l'extinction de cette même solution à $pH \geq 8$. Comme a est l'extinction au pH choisi :

$$pK_a = pH - \log \frac{a - a_m}{a_i - a}$$

Dans le cas d'une base, il est possible d'établir une formule analogue, en tenant compte du fait que c'est la forme acide qui est ionisée (BH^+) et la forme basique qui n'est pas chargée (B)

$$pK_a = pH - \log \frac{a_i - a}{a - a_m}$$

Pour les composés plurifonctionnels, il convient de se montrer particulièrement prudent dans le choix des pH acide ou alcalin, où sont mesurés ϵ_m et ϵ_i . En effet de nombreuses molécules sont à la fois acides et basiques (hydroxy-8 quinoléine, morphine) ou présentent plusieurs acidités ou basicités de forces différentes. Il est nécessaire alors de faire varier lentement le pH pour atteindre des valeurs situées entre les différents pK_a , qui seules permettent la mesure.

Notions d'appareillage

Dans le domaine du visible et de l'ultraviolet, les énergies mises en jeu sont importantes et de nombreux matériaux sont transparents. Il n'apparaît donc pas les mêmes difficultés que pour l'infrarouge. En particulier, qu'il s'agisse des lampes à hydrogène ou à deutérium, utilisées dans l'ultraviolet jusqu'à 350 nm, ou des lampes à incandescence à filament de tungstène, pour les longueurs d'onde supérieures, l'intensité de la source est suffisante pour permettre la sélection de bandes fines suffisamment lumineuses, à l'aide d'un monochromateur (prisme ou réseau).

En outre, l'énergie des photons émis permet sans aucune difficulté l'utilisation de l'effet photoélectrique pour la détection.

La description des spectrophotomètres classiques, à simple ou à double faisceau, a été traitée au cours de physique et il n'est pas nécessaire d'y revenir ici.

En revanche, il est important de souligner l'intérêt d'avances technologiques récentes. Ce progrès consiste en la mise au point de systèmes permettant la mesure simultanée des absorbances, à plusieurs centaines de longueurs d'onde. Ces appareils sont dits à *détection « multicanal »*.

La construction de ces appareils est fondée sur un principe différent de celui des spectromètres classiques. Au lieu de réaliser la dispersion par prisme ou réseau de la lumière émise par la source, puis d'exposer successivement l'échantillon aux différentes radiations monochromatiques ainsi obtenues, les appareils de ce nouveau type sont fondés sur l'envoi direct sur l'échantillon de la lumière polychromatique issue d'une lampe à deutérium dont le spectre continu va de 190 à 820 nm.

L'absorption est donc réalisée simultanément pour l'ensemble des radiations. Ce n'est qu'après cette absorption qu'un réseau holographique permet de séparer chaque radiation. Il résulte de cette conception qu'au lieu du détecteur unique utilisé précédemment, un détecteur indépendant est nécessaire à la mesure de l'absorbance subie par chaque radiation. Ces détecteurs sont constitués par des photodiodes placées en batterie à raison de plusieurs centaines par appareil et reliées à un photomultiplicateur; ils portent le nom de *barrettes de diodes*. Ils permettent de réaliser une mesure tous les deux nanomètres.

L'intensité du signal électrique provenant de la photodiode n'est pas nulle en l'absence de lumière mais croît linéairement avec l'intensité lumineuse.

L'intérêt d'un tel appareillage est tout d'abord de permettre l'extension de la méthode exposée précédemment (v. p. 126) et conduisant au dosage de deux (ou trois) substances en opérant des lectures à deux (ou trois) longueurs d'onde.

Dans le cas présent, ce n'est plus un système de trois équations à trois inconnues qui est utilisé, mais un ensemble de n équations à n inconnues pour lequel le nombre n de mesures est de l'ordre de 300. La résolution mathématique, obtenue grâce à un ordinateur, devrait théoriquement permettre le dosage simultané de très nombreuses substances.

Un second avantage apparaît également. En effet, alors que les spectres électroniques classiques ne sont pratiquement pas utilisés pour l'identification en raison de la largeur et du faible nombre des bandes et des très faibles différences existant entre les spectres de substances de structure voisine, le fait de réaliser la mesure précise des absorbances à un grand nombre de longueurs d'onde, permet de détecter de faibles différences et donc d'utiliser cette technique dans un but d'identification.

Toutefois, ces considérations optimistes méritent d'être quelque peu relativisées en raison de certains inconvénients. Un premier, est inhérent à la technologie. La plupart des appareils existants fonctionnent en monofaisceau et présentent donc, théoriquement, les limites de ce type de montage, en ce qui concerne les fluctuations de la source. Cependant, celles-ci sont, au moins partiellement, compensées par le microordinateur couplé au spectromètre.

Une seconde difficulté peut être due à la structure des substances et provient de la fragilité de certaines molécules qui peuvent subir, par absorption d'un rayonnement très énergétique, une photolyse ou une transformation structurale. Lors du dosage avec un appareil classique, seule est envoyée sur l'échantillon la radiation monochromatique choisie. Elle ne porte donc qu'une faible part de l'énergie produite par la lampe. En revanche, dans le cas du spectromètre à barrette de diodes, la substance est soumise à l'ensemble des radiations du spectre (de 190 à 820 nm) et notamment aux rayonnements de courte longueur d'onde. Il en résulte un risque non négligeable de dégradation.

En outre, la similitude des spectres de nombreuses substances d'intérêt pharmaceutique conduit à une limitation du nombre des molécules dosables simultanément très en deçà de la théorie (environ 10).

Spectrophotométrie dérivée

Cette technique est particulièrement intéressante en spectrophotométrie U.V. et visible appliquée aux solutions qui présentent une composition complexe.

Deux méthodes ont été proposées en dérivation spectrophotométrique :

- la modulation de longueur d'onde qui n'est pratiquement plus utilisée;
- la transformation électronique du signal d'un spectrophotomètre conventionnel.

Ces techniques introduisent deux nouveaux paramètres :

- l'ordre de la dérivée;
- la longueur d'onde à laquelle on calcule la dérivée.

Les techniques actuelles utilisent la transformation électronique du signal qui est plus simple et moins onéreuse que le précédent.

Les techniques de dérivation ont trouvé des applications en particulier dans les domaines de l'analyse biochimique et pharmaceutique; elles ont également débouché sur des utilisations en spectrométrie infrarouge et de fluorescence.

La dérivée d'un pic spectral peut être obtenue mathématiquement de plusieurs manières et les différentes méthodes ne conduisent pas toutes à un spectre identique : il existe des méthodes plus fiables que d'autres.

En effet, lorsqu'un spectre est décomposé en ses composants initiaux sous forme de bandes isolées, les différents programmes d'ordinateur ne fournissent pas la même résolution. Souvent les spectrophotomètres commercialisés n'offrent que peu de possibilités à l'utilisateur de modifier les paramètres mathématiques impliqués dans le calcul des spectres d'une dérivée, et par conséquent de vérifier si l'allure d'une courbe est réelle ou s'il s'agit d'un artefact du programme.

La dérivation en spectrophotométrie est une technique appropriée pour amplifier et préciser les particularités des courbes spectrales. Le but est après avoir dérivé « n » fois un spectre, tout en respectant la longueur d'onde (ou sa fréquence), d'étudier le tracé de la dérivée comparativement au spectre lui-même.

Habituellement, cette dérivée est obtenue à partir d'un spectrophotomètre associé à un système de calcul électronique; le résultat est une mise en valeur de la structure du spectre, laquelle est malheureusement accompagnée d'une décroissance du rapport signal/bruit (S/B).

La technique de dérivation est utilisée en spectrophotométrie U.V. — visible pour analyser la structure des spectres et réaliser le dosage de substances dont les spectres se chevauchent ou de substances se trouvant en présence d'impuretés présentant une absorption parasite : il est alors possible de calculer les dérivées première, seconde, troisième ou quatrième par rapport à la longueur d'onde (ou la fréquence).

● *Aspect des courbes dérivées.* — L'aspect des courbes obtenues par dérivation de l'absorbance par rapport à la longueur d'onde est présenté dans les figures 50 A et B.

En abscisses sont placées les longueurs d'onde (en nm). Le spectre classique (dérivée d'ordre 0) est tracé en utilisant en ordonnées, la notation en absorbance : pour les spectres correspondant aux dérivées première, seconde, troisième et quatrième, cette notation ne peut être utilisée puisque l'absorbance n'a plus alors d'unité associée. Dans les figures présentées les unités sont exprimées en puissance négative de n (n étant l'ordre de la dérivée).

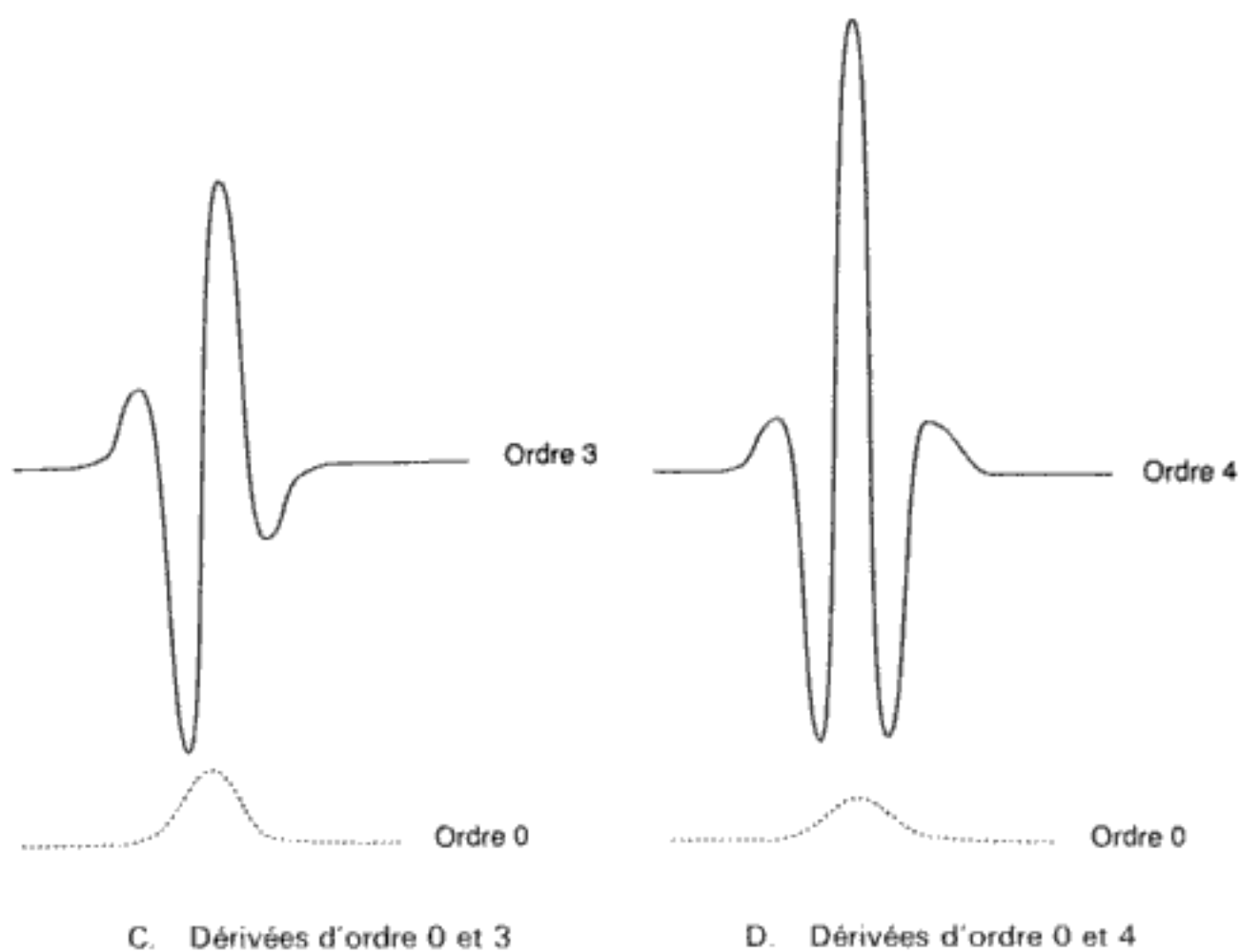
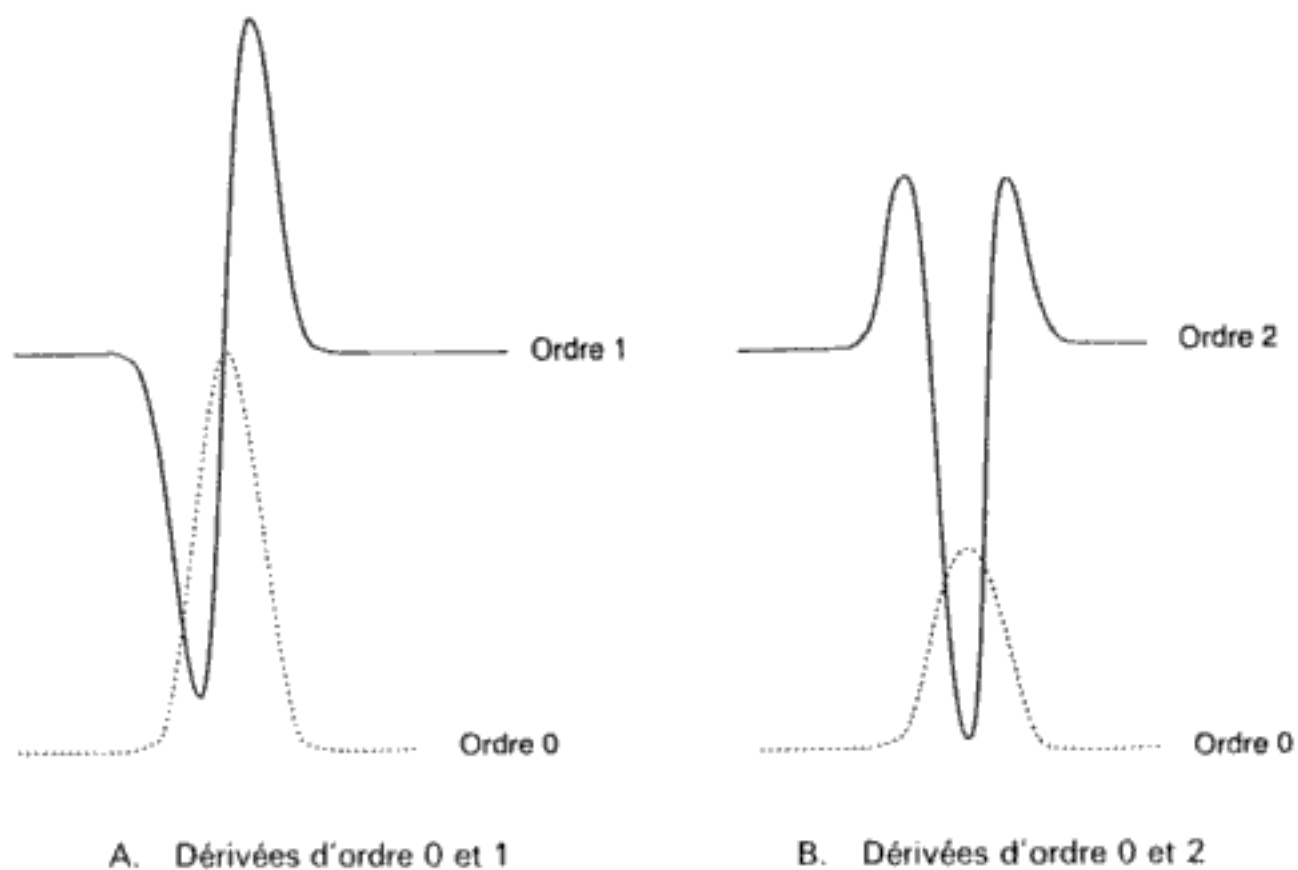


FIG. 50. — Spectre des dérivées d'ordres 0, 1, 2, 3 et 4.

Dérivée d'ordre 1. — La dérivée première (fig. 50 A) présente un maximum et un minimum correspondant à deux inflexions de la courbe dans la partie « montante » et dans la partie « descendante »; elle coupe l'axe des abscisses à une longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption et se confond avec cet axe lorsque l'absorbance est nulle.

La courbe est caractéristique et le maximum d'absorption correspond à l'intersection de la courbe dérivée avec l'axe des abscisses.

La figure 52 présente à titre indicatif la dérivée première d'une bande (A) sur laquelle se superpose un bruit de fond important (B). La courbe résultante ($C = B + A$) est également représentée (C) et montre l'intérêt de la dérivation (fig. 51).

La courbe dérivée (C) qui tient compte de la superposition des courbes (A) et (B) présente toujours un aspect remarquable avec deux pics mais les maximum et minimum ont disparu, cependant qu'une inflexion subsiste à 400 nm (correspondant au maximum de la courbe (A)).

Dérivée d'ordre 2. — La dérivée seconde présente un aspect caractéristique (fig. 50) : la courbe montre un pic négatif important dont le minimum se trouve à la même longueur d'onde que celle du maximum d'absorption du spectre d'ordre 0. Le spectre dérivé présente également deux maximums correspondant aux deux inflexions de la dérivée première.

Comme pour la dérivée première, la figure 53 présente la dérivée seconde des courbes (A) et (B) et de la somme de celles-ci ($C = A + B$).

La courbe dérivée (C) obtenue est déformée par rapport à la courbe (A) mais, ici encore, garde son aspect caractéristique, en particulier le pic négatif présente un minimum situé à une longueur d'onde identique à celle du maximum du spectre d'ordre 0.

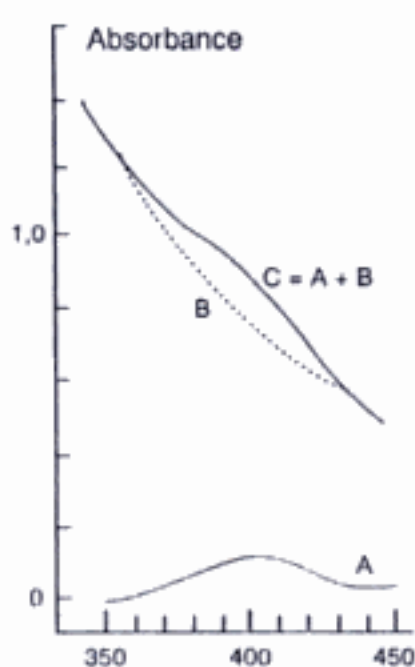


FIG. 51.

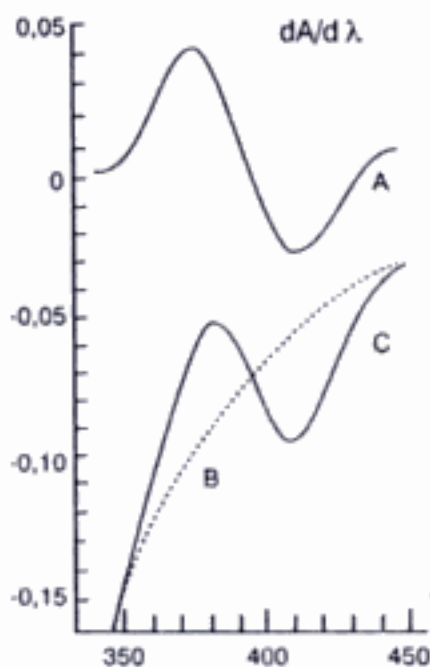


FIG. 52.

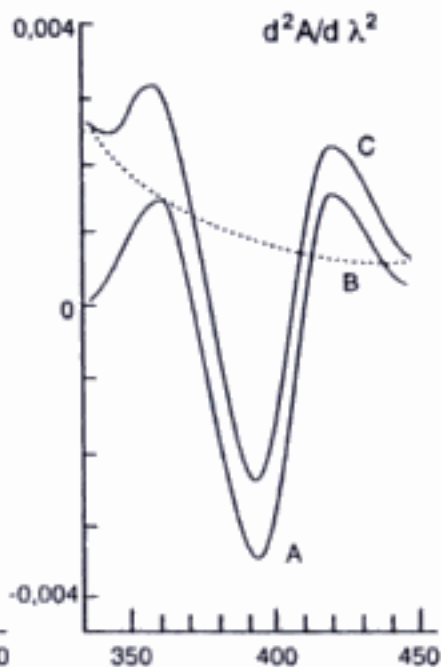


FIG. 53.

Dérivée d'ordre 3. — La complexité des courbes augmente naturellement avec l'ordre de la dérivée, puisque chacune d'elles prend en compte les minimums, les maximums et les inflexions de la dérivée d'ordre immédiatement inférieur.

La dérivée troisième (fig. 50 C) présente un maximum important suivi d'un minimum également important, flanquée d'un petit minimum et d'un petit maximum.

Son aspect rappelle à la fois celui de la dérivée première et de la dérivée seconde. Comme pour la dérivée première elle coupe l'axe des abscisses à une longueur d'onde correspondant à celle du maximum de la bande correspondant au spectre d'ordre 0.

La dérivée troisième n'est guère utilisée dans la pratique.

Dérivée d'ordre 4. — En revanche, la dérivée quatrième est utilisée, car comme pour la dérivée seconde, le pic le plus important a son maximum (maximum en valeur absolue pour la dérivée seconde) situé à la longueur d'onde du maximum de la bande du spectre d'ordre 0 (fig. 50 D).

Ce pic maximum est flanqué de deux minimums relativement importants et de deux faibles maximums.

Bien que la complication du spectre ait encore augmenté (cinq maximums ou minimums), la dérivée quatrième est utilisée dans la pratique car le maximum du pic le plus important est situé à la même longueur d'onde que celle du maximum du spectre d'ordre 0.

On remarque la ressemblance du spectre de la dérivée quatrième avec celui de la dérivée seconde.

Dérivées d'ordre supérieur — Les spectres étant d'autant plus complexes que l'ordre de dérivation augmente, les dérivées d'ordre supérieur à 4 sont rarement utilisées dans la pratique.

En effet, si le spectre d'ordre 0 présente un maximum on s'aperçoit que :

- le spectre dérivé d'ordre 1 présente deux maximums (ou minimums) (un positif — un négatif);
- le spectre dérivé d'ordre 2 présente trois maximums (ou minimums) (un négatif — deux positifs);
- le spectre dérivé d'ordre 3 présente quatre maximums (ou minimums) (deux négatifs — deux positifs);
- le spectre dérivé d'ordre 4 présente cinq maximums (ou minimums) (deux négatifs — trois positifs).

• **Conclusions.** — L'utilisation d'un spectre dérivé présente deux avantages :

- la résolution obtenue est meilleure qu'avec le spectre original et cette résolution augmente avec l'ordre de la dérivée;
- pour une amplitude donnée du pic original, l'amplitude des pics dérivés augmente avec l'ordre de dérivation.

Cependant, l'augmentation de la résolution n'est pas infinie : il faut tenir compte de l'aspect des bandes et du rapport entre la hauteur de la bande au maximum d'absorption et la largeur de cette bande à mi-hauteur; s'il existe un bruit de fond important un lissage des courbes est nécessaire.

Il en résulte que cette méthode amène au niveau des spectres électroniques une amélioration utilisable, aussi bien au plan qualitatif que quantitatif.

SPECTROFLUORIMÉTRIE

Le phénomène de fluorescence est connu depuis près de 4 siècles, mais son utilisation en analyse est relativement récente.

En 1852 Stokes montre que la longueur d'onde du rayonnement émis, a une longueur d'onde plus grande que celle de la lumière excitatrice.

Le développement des méthodes d'analyse par fluorescence a pris une importance croissante, l'appareillage s'étant très grandement perfectionné en particulier dans le domaine de la sensibilité.

• **Appareillage.** — Un spectrofluorimètre est essentiellement constitué (fig. 54) :

1^o d'une source lumineuse : la plupart des appareils utilisent une lampe au xénon qui donne un spectre continu dans l'ultraviolet (S).

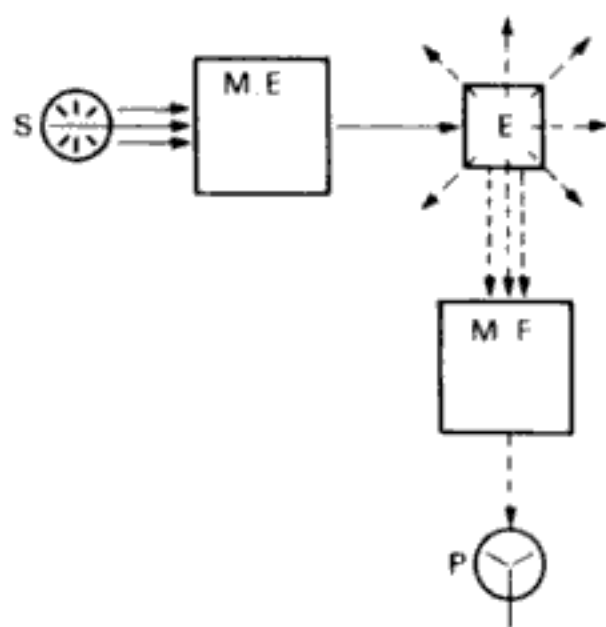


FIG. 54. — Schéma simplifié d'un spectrofluorimètre.

2^o D'un monochromateur (ME) permettant de sélectionner une longueur d'onde déterminée.

3^o Une cuve généralement de section carrée de 1 cm de côté dont les faces peuvent être partiellement argentées, contenant l'échantillon (E).

4^o Un monochromateur (MF) placé sur un rayon émergent à 90° du rayon incident, permettant de sélectionner une longueur d'onde déterminée. Les monochromateurs peuvent être des prismes ou des réseaux.

5^o Un photomultiplicateur (P).

6^o Un système de mesure de l'intensité fournie par le photomultiplicateur.

• *Spectres de fluorescence.* — En raison des échanges énergétiques donnant lieu au phénomène de fluorescence, la longueur d'onde de la lumière émise est supérieure à celle de la lumière absorbée (loi de Stokes). Cependant, dans certains cas très particuliers, les molécules peuvent donner le phénomène inverse (fluorescence anti-Stokes) : à température ordinaire, les molécules peuvent se trouver à un niveau de vibration de l'état fondamental relativement élevé; lors du phénomène de fluorescence les molécules peuvent retomber à un niveau énergétique plus bas que le niveau de départ (par exemple au niveau électronique fondamental (fig. 55)).

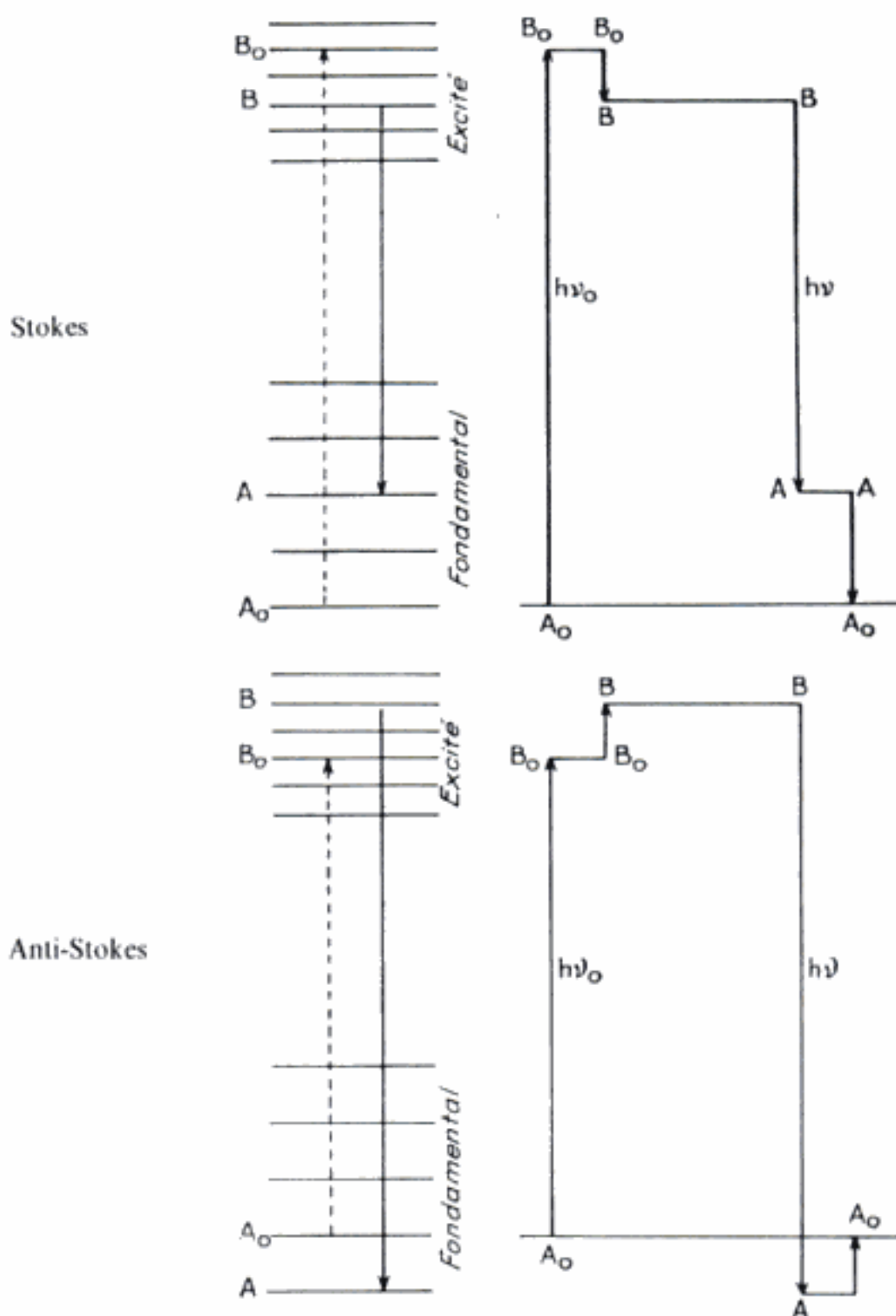


FIG. 55. — Effet Stokes et anti-Stokes.

Un spectre se décompose en deux parties.

1^{re} Le spectre d'excitation, qui correspond au spectre de la lumière absorbée par la molécule : c'est théoriquement le spectre d'absorption de celle-ci. En réalité ces deux spectres peuvent ne pas être exactement superposables.

2^{de} Le spectre d'émission : d'après la loi de Stokes il est différent et son (ou ses) maximum est situé à une longueur d'onde supérieure à celle du spectre d'excitation. Ces deux spectres se recouvrent partiellement à cause de l'effet anti-Stokes.

Il est possible de préciser davantage des variations d'énergie en utilisant les courbes $E_r = f(x_0)$ (ou $f(r_0)$) (v. p. 76). Ces courbes d'énergie (courbes de Morse) relient l'énergie d'une molécule à la distance internucléaire (fig. 56). A l'état fondamental l'aspect de cette courbe traduit une distribution de Maxwell en raison des variations dues à la structure complexe des molécules. Il en est de même au premier état électronique excité mais le point correspondant au minimum d'énergie (point 0) n'a pas la même abscisse, pour l'état fondamental et pour le premier niveau énergétique excité. La distance internucléaire est plus grande à l'état excité en raison du caractère antiliant des orbitales.

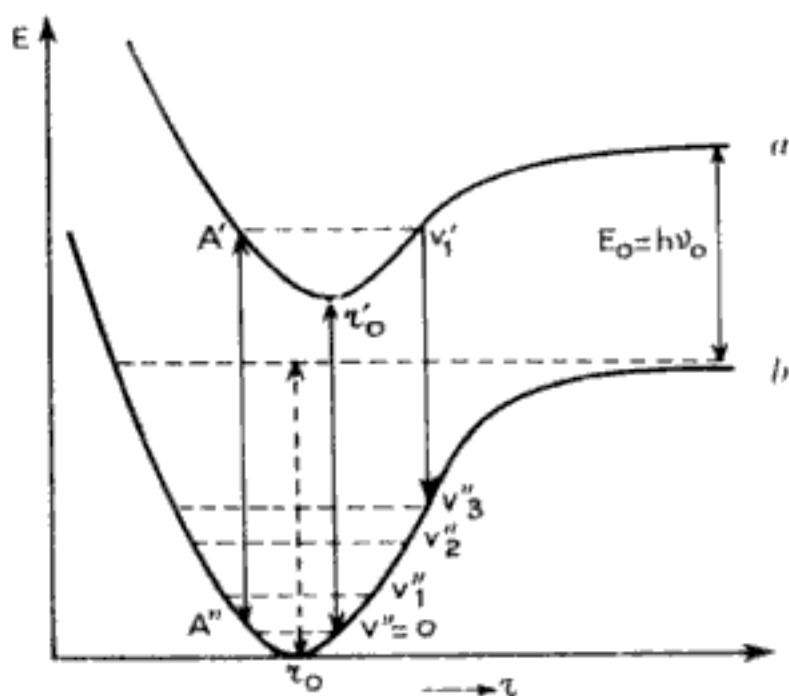


FIG. 56. — Courbes d'énergie de Morse.

a) État excité. b) État fondamental.

Ce point zéro correspond à la majorité d'une population de molécules et le nombre de celles-ci diminue au fur et à mesure que la distance internucléaire augmente ou diminue, et, donc que l'énergie augmente.

Lors de l'excitation l'absorption d'énergie se fait très rapidement (10^{-15} s) et au cours de cette transition la distance internucléaire ne change pratiquement pas (transition verticale).

La longueur d'onde de la lumière absorbée est inversement fonction de l'énergie absorbée : cette énergie est matérialisée par la distance entre les deux

courbes (v. p. 135).

Pendant le phénomène de relaxation une redistribution intervient et les différentes molécules excitées se répartissent à nouveau selon la loi de Maxwell-Boltzmann, de sorte que la courbe de Morse du premier niveau excité présente un aspect comparable à celle du niveau fondamental, le minimum étant déplacé vers la droite.

Lors de l'émission, l'énergie moléculaire retombe rapidement au niveau fondamental; comme pour le phénomène d'excitation, la transition est verticale, c'est-à-dire qu'au cours de celle-ci aucune modification de la distance internucléaire n'intervient.

La longueur d'onde de la lumière émise est inversement proportionnelle à la distance entre les deux courbes de Morse.

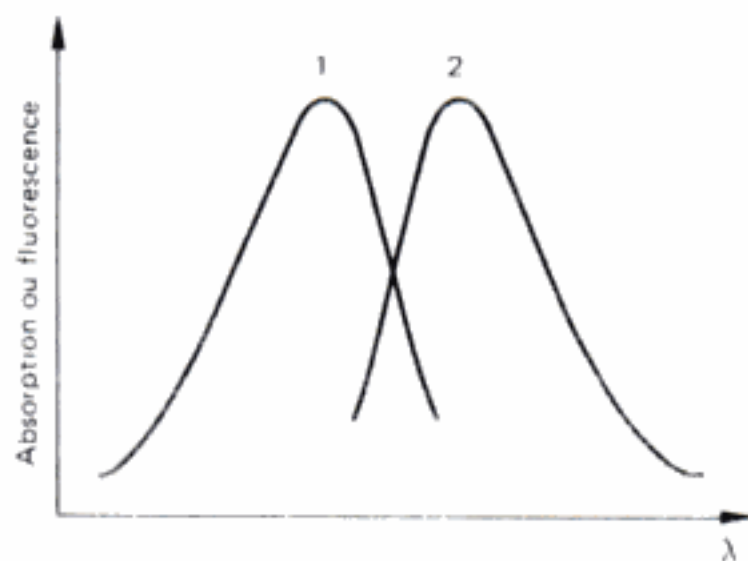
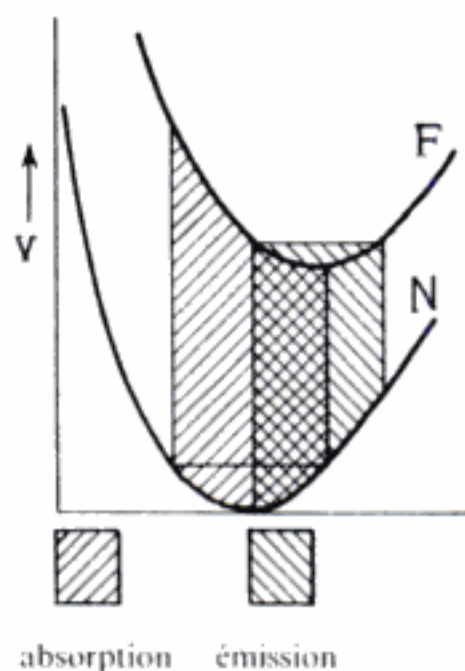
Lorsque les molécules sont revenues au niveau fondamental, une nouvelle redistribution intervient et les molécules se répartissent selon la courbe de Morse initiale.

Il en résulte que les spectres d'excitation et d'émission ont tendance à présenter un recouvrement partiel (fig. 57 et 58).

=====

FIG. 57. — Bande d'absorption et d'émission.

=====



- 1 Excitation
2 Émission

=====

FIG. 58. — Aspect d'un spectre de fluorescence. 1 : excitation, 2 : émission.

=====

Les deux spectres ont chacun une allure dissymétrique, mais présentent entre eux une image en « miroir ».

Ce phénomène de recouvrement partiel peut entraîner des erreurs lors des mesures et pour cette raison il est essentiel, en particulier si les deux spectres présentent des maximums assez proches, de disposer d'excellents monochromateurs de manière à sélectionner parfaitement les deux longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence.

Il en résulte que la position du maximum du spectre d'émission est indépendante de la longueur d'onde d'excitation, et que le maximum du spectre d'excitation n'est en général pas très éloigné de celui du spectre d'absorption.

• **Intensité de fluorescence.** — L'intensité de la lumière émise par un échantillon est fonction de l'intensité de la lumière excitatrice et de la concentration de l'échantillon.

Le rayonnement d'intensité I_0 ayant une incidence normale vis-à-vis de l'échantillon, l'intensité absorbée par une solution est donnée par la loi de Beer-Lambert :

$$\frac{dI}{I_0} = -kc \, dl;$$

dl étant l'épaisseur traversée par le rayon incident;

c étant la concentration molaire.

En intégrant et en appelant I_t l'intensité transmise, et I_a l'intensité absorbée par l'échantillon :

$$I_t = I_0 e^{-kcl} \quad \text{et} \quad I_a = (I_0 - I_t) = I_0 (1 - e^{-kcl})$$

L'énergie de fluorescence (lumière émise) est théoriquement inférieure à l'énergie d'excitation (loi de Stokes).

Pratiquement ce phénomène est accentué par le fait que l'émission de lumière s'effectue d'une façon égale dans toutes les directions et que dans un spectrofluorimètre, seule une partie de cette lumière émise est mesurée par le photomultiplicateur.

$$I_F = \Phi I_a$$

Φ étant inférieur à l'unité.

Il en résulte que :

$$I_F = \Phi I_a = K' I_0 (1 - e^{-kcl})$$

en développant :

$$I_F = \Phi' I_0 \left[1 - \left(1 - kcl + \frac{k^2 c^2 l^2}{2!} - \frac{k^3 c^3 l^3}{3!} \dots \right) \right]$$

En général, l'épaisseur de la cuve est de 1 cm ($l = 1$).

Si la concentration c reste faible, les valeurs des termes de la suite $\frac{k^2 c^2 l^2}{2!}$, $\frac{k^3 c^3 l^3}{3!}$ etc... sont négligeables devant $(1 - kcl)$.

A cette condition, K étant une constante tenant compte de k et Φ :
 $I_F = KI_0c$.

Il faut donc utiliser des solutions très diluées (v. p. 141). Ce n'est qu'à cette condition que l'intensité de fluorescence peut être considérée comme proportionnelle à la concentration. Il est important de souligner ici la différence de sensibilité entre spectrophotométrie et spectrofluorimétrie, puisque dans la première méthode, la concentration est seulement proportionnelle au logarithme du rapport des intensités incidente et transmise.

Rendements. — *Rendement quantique.* — Φ rapport entre le nombre total de photons émis par fluorescence et le nombre total de photons absorbés initialement est appelé rendement quantique ou efficacité de fluorescence.

Il est pratiquement indépendant de la longueur d'onde d'excitation.

Dans le cas de molécules très fluorescentes Φ est proche de 1 (fluorescéine en milieu sodique : 0,85).

Rendement quantique relatif. — La détermination du rendement quantique nécessite de mesurer le flux lumineux total émis dans toutes les directions; ceci n'est pas réalisé couramment.

La plupart des auteurs font appel au rendement quantique relatif $\frac{\Phi_x}{\Phi_q}$ qui est le rapport entre le rendement quantique de la molécule étudiée et celui du sulfate de quinine en milieu acide ($\Phi_q = 0,55$).

Ce rendement relatif est déterminé pratiquement à l'aide des intensités de fluorescence de solutions d'absorbances identiques

$$\frac{\Phi_x}{\Phi_q} = \frac{I_{F_x}}{I_{F_q}}$$

Rendement de fluorescence. — La mesure de l'intensité de fluorescence I_F ou du rendement quantique Φ peut être réalisée sur des solutions d'une substance fluorescente de concentrations croissantes.

Le graphe $I_F = f(c)$ (fig. 59) montre que I_F augmente avec la concentration jusqu'à une valeur maximale I_{F_m} correspondant à une valeur c_m . Mais déjà bien avant cette dernière concentration, la variation n'est plus linéaire. Il n'est plus possible en effet de négliger les termes du développement en série indiqués ci-dessus.

Pour des concentrations supérieures à c_m , I_F diminue, car il y a réabsorption d'une partie de la lumière émise et donc inhibition par effet de filtre interne (voir ci-dessous).

Pour des valeurs de I_F inférieures à I_{F_m} il existe donc deux valeurs de c donnant la même intensité de fluorescence.

Le rapport $\psi = \frac{I_F}{c}$ permet de rendre compte du *rendement de la fluorescence*.

Il correspond, en effet, à une droite parallèle à l'axe des abscisses, tant que le graphe correspondant $I_F = f(c)$ peut être assimilé à une droite (fig. 59).

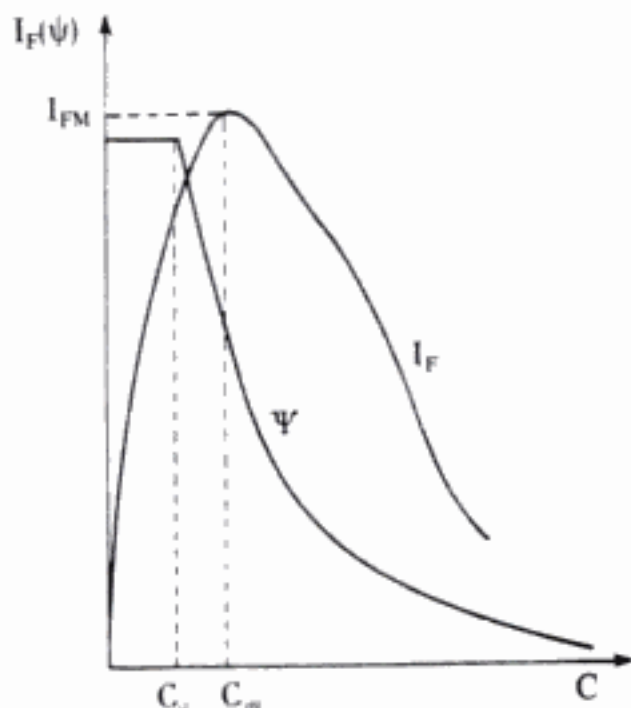


FIG. 59. — Variations de I_F et de ψ en fonction de la concentration.

Ensuite le phénomène d'inhibition entraîne une décroissance de la fluorescence.

Pratiquement, il n'est possible d'effectuer une mesure valable, que pour des concentrations nettement inférieures à c_m (correspondant à la partie linéaire de la courbe).

● **Phénomènes d'inhibition.** — De nombreux phénomènes peuvent entraîner une inhibition plus ou moins importante de la fluorescence : ils peuvent être classés en deux catégories : les phénomènes *internes* qui ont pour origine la molécule elle-même, les phénomènes *externes* qui sont dus à des interactions avec des molécules du solvant ou contenues dans le solvant. Nous ne citerons que les plus importants.

Phénomènes internes. — EFFET DE FILTRE INTERNE. — L'examen en lumière de Wood, de tubes à essais contenant des solutions de quinine de plus en plus concentrées illustre ce phénomène.

Pour les solutions très diluées la fluorescence est identique en tout point de la solution.

Au fur et à mesure que la concentration augmente la fluorescence décroît de l'extérieur à l'intérieur de la solution, et en cas de solutions très concentrées, seule la partie située vers l'extérieur est fluorescente.

Ce phénomène s'explique par les faits suivants :

1° L'intensité de la lumière excitatrice décroît en fonction de l'épaisseur de la solution traversée. Si la concentration est faible la décroissance est négligeable et l'intensité du faisceau peut être en première approximation, estimée égale en tout point de la solution.

Si la concentration est importante, l'intensité décroît et les molécules de

quinine reçoivent d'autant moins d'énergie qu'elles sont plus éloignées de la face externe.

A la limite, la totalité de la lumière excitatrice peut être absorbée.

2^o La lumière émise par les molécules de quinine, doit traverser une fraction plus ou moins importante de la solution, selon que ces molécules se trouvent plus ou moins éloignées de la face externe. Comme les spectres d'excitation et d'émission ont un recouvrement partiel, une partie de cette lumière émise est absorbée par les molécules restées à l'état fondamental.

Cette *réabsorption* est évidemment d'autant plus importante que la concentration est forte : elle ne peut être négligée que dans le cas des solutions très diluées.

PHOTODÉCOMPOSITION. — Pour un appareil déterminé, à une concentration donnée, l'intensité de la lumière émise est théoriquement fonction de l'intensité excitatrice.

$$I_F = KI_0c$$

Il n'est pas possible d'augmenter trop fortement l'intensité de la source excitatrice; au-dessus d'un certain seuil, les molécules fluorescentes sont amenées à un niveau énergétique incompatible avec leur stabilité. Il en résulte une destruction et l'intensité de fluorescence décroît.

La photodécomposition est mise en évidence en effectuant sur une même solution plusieurs mesures successives. La décroissance des résultats obtenus au cours de ces mesures successives traduit cette photodécomposition.

En conséquence, il est nécessaire dans la mesure du possible, de faire un compromis entre la concentration et l'intensité de l'excitation.

NATURE DES SUBSTITUANTS DE LA MOLÉCULE. — La nature des substituants peut, soit être sans effet sur la capacité de fluorescence d'une molécule, soit avoir un effet inhibiteur, soit au contraire, augmenter celle-ci (tableau XVI).

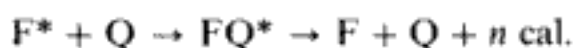
Tableau XVI. — EFFET DE DIFFÉRENTS SUBSTITUANTS SUR LE MAXIMUM D'ABSORPTION DU SPECTRE ET SUR L'INTENSITÉ DE FLUORESCENCE.

<i>Substituants</i>	<i>Maximum d'absorption</i>	<i>Intensité de fluorescence</i>
Alcoyle	sans effet	hyperchrome (faible)
Phénol	bathochrome	hyperchrome
Méthoxy, éthoxy	bathochrome	hyperchrome
Amines (I, II, III)	bathochrome	hyperchrome
Carboxyle	bathochrome	hypochrome
SO ₃ H	sans effet	sans effet
CN	sans effet	hyperchrome
SH	bathochrome	hypochrome
Halogènes	bathochrome	hypochrome

Phénomènes externes (en anglais Quenching). — Les phénomènes d'inhibition *externes* sont dus à la présence d'impuretés dans la solution, ou à la modification de certaines propriétés sous l'influence d'agents physiques (température) ou chimiques (solvants).

INHIBITION PAR COLLISION. — Au sein d'une solution les molécules à l'état excité peuvent perdre leur énergie sous forme de chaleur lors de collisions avec d'autres molécules.

Une molécule susceptible de fluorescence F , à l'état excité F^* rencontre une particule Q . Il y a formation transitoire de l'agrégat FQ^* , transfert d'énergie à la particule Q qui ensuite perd celle-ci sous forme de chaleur



Les phénomènes de solvation, d'ionisation, de formation de paires d'ions peuvent intervenir en modifiant les niveaux énergétiques.

La température favorise ces phénomènes d'inhibition : la dilution a, théoriquement, tendance à les minimiser.

INHIBITION SANS COLLISION. — Ce phénomène de transfert d'énergie peut apparaître sans qu'il y ait collision. Par couplage un niveau énergétique excité d'une molécule A peut approvisionner un niveau énergétique excité d'une molécule B à condition que le niveau de B soit très légèrement inférieur à celui de A



La molécule B peut être ou non fluorescente; si elle n'est pas fluorescente elle se désactive : il y a inhibition de la fluorescence de A .

Si la molécule B est fluorescente, la molécule A peut ne pas être elle-même fluorescente mais entraîner la fluorescence (ou la phosphorescence) de B .

NATURE DU SOLVANT. — Le solvant peut avoir pour effet de modifier les niveaux énergétiques des molécules. Il peut favoriser ou au contraire inhiber la fluorescence.

Par exemple la quinoléine n'est pas fluorescente en milieu apolaire alors qu'elle est fluorescente en milieu polaire.

INFLUENCE DU pH. — Les acides faibles et les bases faibles sont dissociés ou non selon le pH du milieu réactionnel. La modification de structure qui résulte de la variation du pH retentit sur la fluorescence.

Si la forme moléculaire d'un acide Ha est fluorescente :

$$I_F = k [Ha]$$

Si C est la concentration totale en acide et K la constante de dissociation, l'intensité de fluorescence F est égale à :

$$I_F = k \frac{C[H^+]}{K + [H^+]}$$

(k est une constante).

Si le pH augmente, l'intensité de fluorescence diminue.

Le graphe $I_F = f(pH)$ présente un aspect analogue à la courbe de neutralisation d'une base faible qui présente un point d'inflexion à la valeur $pH = pK$. A ce point l'intensité de fluorescence est égale à la moitié de la fluorescence maximale.

Un raisonnement similaire peut se faire avec une base faible dont la forme non dissociée est fluorescente.

Par exemple, l'aniline n'est pas fluorescente pour les pH inférieurs à 2 : elle se trouve sous forme d'ion anilinium $C_6H_5NH_3^+$.

Lorsque le pH augmente, la concentration en aniline $C_6H_5NH_2$ augmente, ainsi que la fluorescence qui atteint la moitié de sa valeur maximale pour $pH = pK = 4,5$ et est maximale à pH 7,5-8.

Elle reste constante jusqu'à pH 11-12, puis diminue en raison de la formation de l'anion $C_6H_5NH^-$ non fluorescent.

SUBSTANCES INHIBITRICES. — Les cations correspondant aux métaux de transition qui sont en général colorés absorbent de l'énergie et inhibent la fluorescence. Il en est de même des ions halogène dont l'effet inhibiteur augmente avec le poids atomique.

Les ions sulfate et nitrate ne sont pas inhibiteurs. L'oxygène dissous inhibe la fluorescence. Il est possible d'éliminer cette interférence en chassant celui-ci par barbotage d'azote.

● **Applications de la fluorescence.** — Les applications analytiques de la fluorescence sont très nombreuses et il ne sera fait mention que de quelques exemples.

Les avantages de l'analyse par fluorescence sont les suivants.

1) Sensibilité : les quantités de substance à utiliser sont de l'ordre du microgramme par prise d'essai.

b) Spécificité : les mesures spectrofluorimétriques nécessitent la sélection d'une longueur d'onde d'excitation déterminée et d'une longueur d'onde d'émission.

Le champ d'application de la fluorescence est étendu, particulièrement en chimie analytique organique. En chimie minérale notons que les sels de terres rares et les dérivés de l'uranium sont fluorescents.

En chimie organique de nombreuses substances présentent une fluorescence native. C'est le cas en particulier des porphyrines, des quinoléines, des dérivés anthracéniques, des tétracyclines... En règle générale une molécule est fluorescente si elle possède des doubles liaisons conjuguées, une structure cyclique ou polycyclique et une rigidité suffisante.

Les principaux groupements pouvant conférer à une molécule cette propriété sont par exemple, les cycles fluorophores suivants : benzène, γ -pyrone, pyrazine, oxazine, thiazine... : l'influence des substituants est importante.

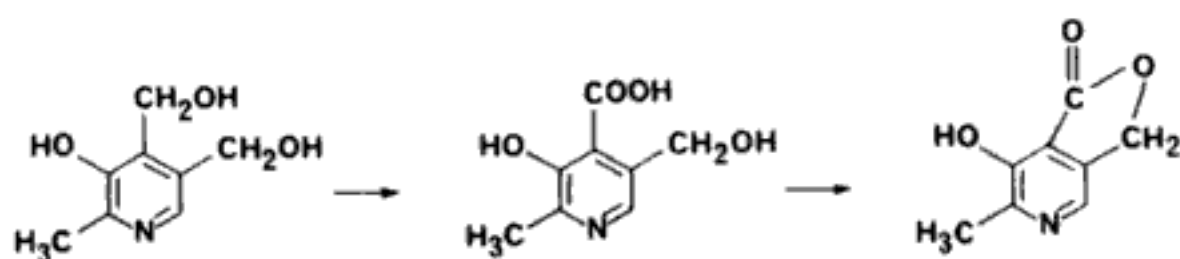
Il est possible de faire subir à une molécule des transformations chimiques pour rendre celle-ci fluorescente. Ces réactions sont nombreuses.

1° INFLUENCE DU pH. — La 5-hydroxytryptamine présente une intense fluorescence en milieu chlorhydrique 3 N (excitation : 295 nm, émission : 550 nm).

2° HÉTÉROCYCLISATION. — La création de cycles supplémentaires peut se faire en mettant en jeu soit un atome d'oxygène, soit un atome d'azote.

a) Oxygène. — Un acide β cétonique réagit sur un phénol en conduisant à une coumarine. Dans le cas du résorcinol il se forme des 7-hydroxycoumarines (ombelliférone) fluorescentes.

De même par oxydation permanganique la pyridoxine déjà fluorescente donne naissance à l'acide pyridoxique qui par cyclisation en milieu acide conduit à la lactone.



b) Azote. — La fermeture du cycle peut se faire sur un atome d'azote.

Cette technique est utilisée dans le dosage des catécholamines : adrénaline, noradrénaline, dopamine, 3,4-dihydroxyphénylalanine (DOPA) (v. p. 255).

Dans le cas de l'adrénaline, en milieu alcalin, un réactif oxydant (iode, ferricyanure) conduit à l'adrénochrome qui se transforme ensuite en milieu acide, en 3,5,6-trihydrométhyl indole (adrénolutine) très fluorescent à pH 3,5 (excitation : 410 nm, émission : 520 nm); le dérivé obtenu avec la noradrénaline est dosé à pH 6,5 (excitation : 395 nm, émission : 505 nm).

Il est possible par action de l'éthylène diamine d'obtenir un dérivé tricyclique, dont la fluorescence est plus intense.

3° DÉSHYDROGÉNATION DE CYCLES. — Dans la série des hormones stéroïdiennes, il est possible de créer des doubles liaisons supplémentaires qui conduisent à des dérivés fluorescents.

4° HALOFLUORIE. — Les réactions d'halofluorie sont comparables aux réactions d'halochromie.

5° De nombreuses réactions ont été décrites qui conduisent à des dérivés fluorescents.

A titre d'exemple, la réaction de Hantzsch permet de doser de petites molécules telles que le formaldéhyde et l'ammoniaque ou des amines primaires avec formation de lutidines (v. p. 255).

Conclusion. — La spectrofluorimétrie est une méthode sensible et spécifique qui est utilisée, aussi bien dans le contrôle de qualité, qu'en biochimie, ou dans l'étude du métabolisme des médicaments.

POLARISATION DE FLUORESCENCE

Si, au lieu d'exciter une molécule fluorescente par un faisceau monochromatique de lumière naturelle, on utilise une lumière polarisée, la fluorescence émise peut être, selon la nature de la molécule et le milieu environnant, totalement ou particulièrement polarisée. La détermination de l'intensité de cette polarisation est appliquée à des fins analytiques, tout particulièrement en chimie macromoléculaire et en immunologie.

Principe

La lumière polarisée rectiligne est obtenue par différents procédés (réflexion ou réfraction vitreuse, réfraction dans les milieux biréfringents, prismes de Nicol ou cristaux synthétiques uniaxes). La direction des différents vecteurs champs électriques, $\vec{E}$, observée dans un plan perpendiculaire à la propagation et donc aux plans de vibration, est quelconque dans le cas de la lumière naturelle (fig. 60(a)), alors qu'elle est unique dans le cas de la lumière polarisée (fig. 60(b)).

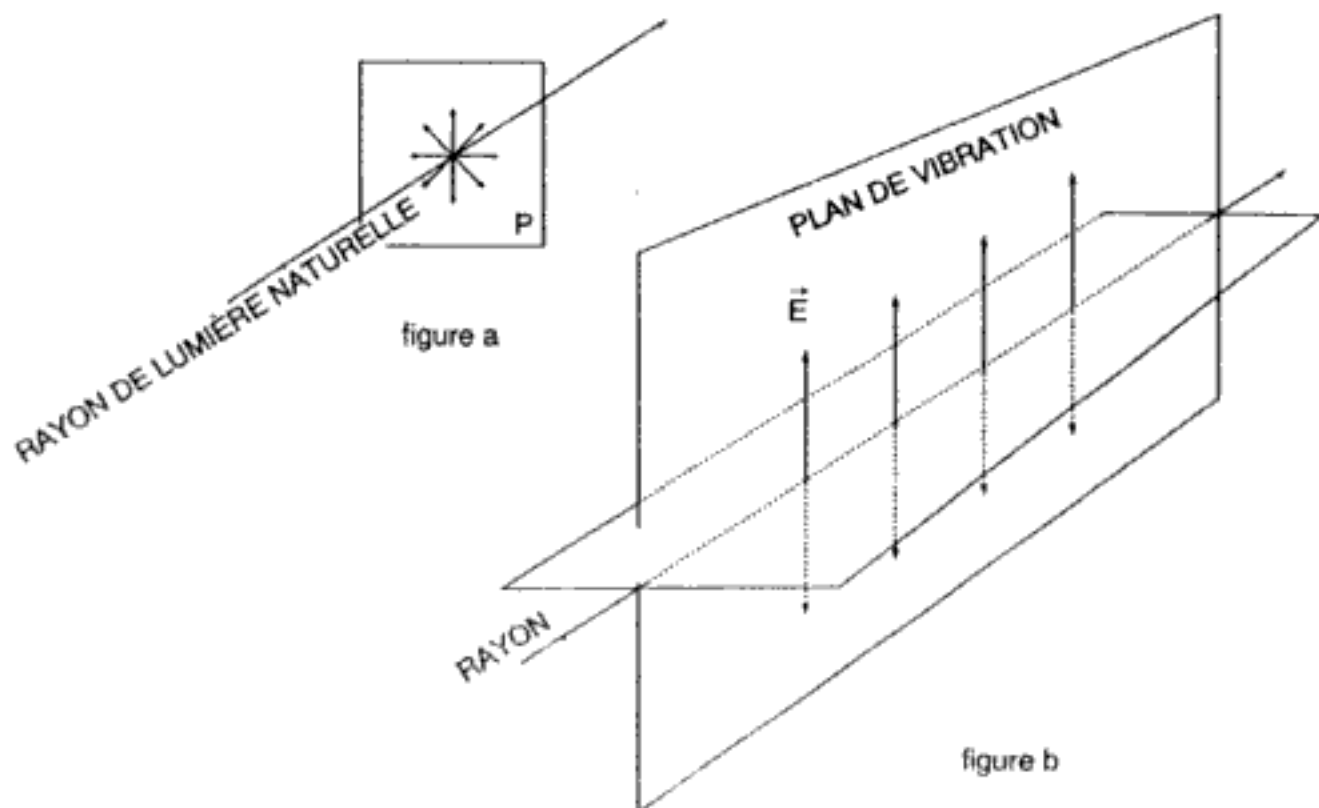


FIG. 60.

Lors de l'excitation d'une molécule non fluorescente, un électron appartenant à une couche périphérique de la molécule est déplacé, créant ainsi un dipôle qui réémet aussitôt, dans toutes les directions, de la lumière diffusée ayant même fréquence que la radiation incidente.

Le moment dipolaire induit ou « moment de transition » $\vec{M}$, caractérisant ce dipôle est relié au champ électrique $\vec{E}$ et, à la polarisabilité de la molécule α par la relation vue page 101, la polarisabilité traduisant l'aptitude de la molécule à interagir avec un champ électrique.

$$\vec{M} = \alpha \vec{E}$$

Si l'on envisage un rayon lumineux de champ électrique $\vec{E}$ rencontrant une molécule de centre de gravité O, le moment dipolaire induit $\vec{M}$ se présente comme un vecteur d'origine O. Il se situe dans le plan yOz normal à la direction Ox du rayon lumineux. Si la molécule est de symétrie sensiblement sphérique, $\vec{M}$ est colinéaire à $\vec{E}$. En ne considérant que la diffusion de la lumière, dans la seule direction Oy perpendiculaire à Ox, on observe une lumière en principe *totalelement polarisée rectilignement* dont le champ électrique $\vec{E}'$ reste toujours vertical puisque ne vibrant que dans le seul plan yOz. Ceci est observé que la lumière incidente soit naturelle ou déjà polarisée.

Dans le cas le plus général, la molécule ne possède pas cette symétrie sphérique, $\vec{M}$ n'est plus colinéaire à $\vec{E}$ et forme un angle θ avec l'axe Oz (fig. 61). La lumière diffusée est alors de nature intermédiaire entre une lumière naturelle et une lumière polarisée.

Lorsque la lumière incidente est polarisée, après interaction avec la molécule la polarisation de la lumière diffusée n'est plus totale. Il s'est produit une *dépolarisation* dont l'intensité dépend de la nature de la molécule et du milieu environnant.

Ces considérations n'ont pas d'implication importante sur les phénomènes de diffusion, d'absorption ou de fluorescence, lorsque la radiation lumineuse incidente est formée de lumière naturelle. Dans ce cas, en effet, la direction de $\vec{E}$, dans le plan normal à la propagation de rayon lumineux, n'est pas fixe et toutes les situations se présentent. Il en est autrement lorsque la direction de $\vec{E}$ est fixée, c'est-à-dire lorsque la lumière incidente est polarisée. Il faut alors en envisager les conséquences au niveau de l'absorption et de l'émission qui dépendent, dans ce cas, de l'orientation des molécules.

• **Absorption d'une lumière polarisée.** — La probabilité d'absorption, donc le nombre des molécules excitées, dépend de l'orientation de $\vec{M}$ par rapport à la direction du champ $\vec{E}$ de la lumière polarisée incidente; elle est maximale pour les molécules dont les moments dipolaires induits sont colinéaires au faisceau incident, nulle lorsque ce moment est orthogonal à $\vec{E}$ et, pour les autres, proportionnelle à $\cos^2 \theta$, angle entre les vecteurs $\vec{M}$ et $\vec{E}$ qui, dans la figure 61, a été choisi parallèle à Oz.

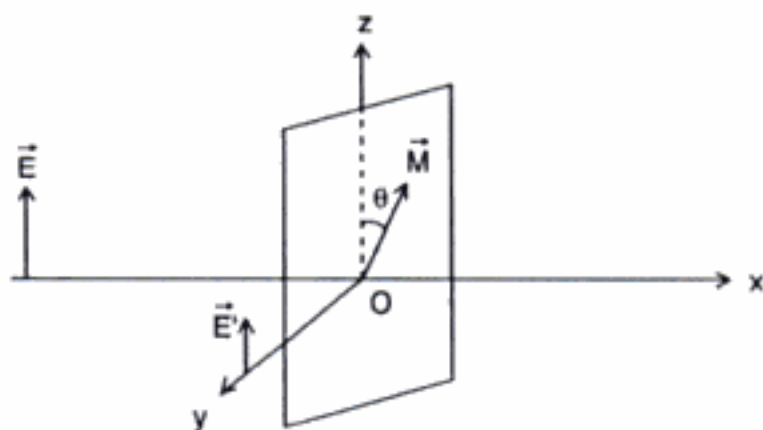


FIG. 61.

● **Émission de lumière.** — Les phénomènes de relaxation non radiatifs qui se produisent pendant la durée de vie à l'état excité modifient l'orientation des molécules. Selon leur nature et celle du milieu environnant, ces molécules présentent au niveau le plus bas de l'état excité singulet un nouveau moment dipolaire $\vec{M}'$ qui peut former un angle γ allant de 0 à 90° avec $\vec{M}$ (fig. 62). Ces modifications, aussi bien au moment de l'absorption que pendant la relaxation, ont pour résultat la dépolarisation de la lumière incidente. L'intensité de la polarisation de la lumière fluorescente émise diffère de celle de la lumière d'excitation.

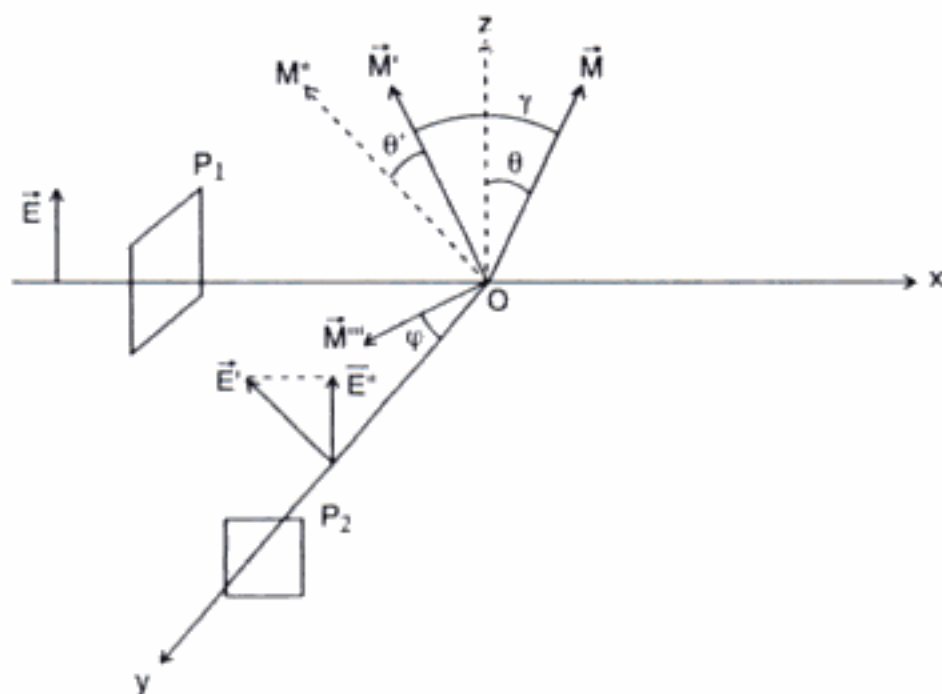


FIG. 62.

Le vecteur champ électrique $\vec{E}'$ de la lumière polarisée émise devrait normalement être colinéaire à $\vec{M}'$. Mais, en raison de la désorientation acquise, du fait des mouvements browniens lors de la durée de vie au niveau le plus bas de l'état excité singulet, le vecteur $\vec{M}'$ doit être remplacé par un vecteur $\vec{M}''$ qui fait un angle θ' avec $\vec{M}'$. La lumière polarisée émise est donc alors

représentée par un vecteur champ électrique $\vec{E}'$ (parallèle à $\vec{M}''$) qui fait donc un angle θ' avec le vecteur $\vec{M}'$. La probabilité d'émission de lumière polarisée obéit aux mêmes règles que précédemment; elle est maximale si $\vec{E}'$ est colinéaire à $\vec{M}'$ et nulle si $\vec{E}'$ est perpendiculaire à $\vec{M}'$. Entre ces limites, elle est proportionnelle à $\cos^2 \theta'$.

Si l'on excite la molécule de centre de gravité O par une lumière polarisée verticalement selon l'axe Ox à l'aide d'un polariseur P_1 et que l'on observe, comme précédemment, selon l'axe Oy, la lumière émise après passage à travers un deuxième polariseur P_2 de même orientation que P_1 , seule subsiste la composante $\vec{E}''$ de $\vec{E}'$.

— Pour une orientation verticale (*vv*) de P_1 et de P_2 (polariseurs parallèles) par rapport aux axes Ox et Oy, on capte une intensité maximale I_{vv} quand $\vec{E}'$ et $\vec{E}$ sont parallèles.

— Pour une orientation horizontale (*h*) de P_2 (polariseurs croisés), on capte une intensité I_{hv} : celle-ci correspond à $\vec{M}''$, projection de $\vec{M}''$ sur le plan horizontal xOy; $\vec{M}''$ forme un angle ϕ avec l'axe Oy. S'il n'y avait pas de dépolarisation I_{hv} devrait être nul puisque $\vec{E}'$ et $\vec{E}$ seraient parallèles. En fait, I_{hv} possède toujours une certaine valeur qui, rend compte de la dépolarisation, différence entre la polarisation de la lumière incidente avant son absorption et celle de la lumière fluorescente émise.

Taux de polarisation. — Le taux ou degré de polarisation est défini par la relation :

$$p = \frac{I_{vv} - I_{hv}}{I_{vv} + I_{hv}}$$

I_{vv} : fraction de la lumière diffusée parallèlement à la polarisation incidente.

I_{hv} : fraction de la lumière diffusée perpendiculairement à la polarisation incidente.

Théoriquement p peut prendre toutes les valeurs entre $+1$ et -1 :

- quand $I_{hv} = 0$, $p = +1$ et quand $I_{vv} = 0$, $p = -1$, la lumière est complètement polarisée;
- quand $p = 0$, la lumière n'est plus polarisée (lumière naturelle);
- quand $-1 < p < 1$, la lumière est partiellement polarisée.

En réalité, en dehors de tout mouvement ou interaction avec d'autres espèces, il faut prendre en compte la distribution des molécules et faire intervenir l'angle γ qui peut varier de 0 à 90° et l'angle ϕ qui peut varier de 0 à 360° . On définit donc, en l'absence de toute dépolarisation, la polarisation intrinsèque de la molécule p_0 qui aura pour valeur limite $-\frac{1}{3}$ ($\gamma = 90^\circ$) et $+\frac{1}{2}$ ($\gamma = 0^\circ$) :

$$-\frac{1}{3} < p_0 < +\frac{1}{2}$$

Mesure du taux de polarisation. — Le dispositif de mesure du taux de polarisation comprend deux polariseurs. Le premier polariseur P_1 , mobile, bascule de 90° pendant des temps constants; il polarise successivement verticalement puis horizontalement le faisceau lumineux d'excitation. Le deuxième, P_2 , placé sur le trajet du faisceau lumineux reste fixe; il analyse la composante verticale E'' de la lumière émise.

Les mesures successives de I_{vv} (polariseurs parallèles) et I_{hv} (polariseurs croisés) permettent, par le traitement automatique des données à l'aide de microprocesseur, de déterminer le taux de polarisation.

● **Origines de la dépolarisation.** — La dépolarisation de la lumière incidente peut se produire lors de l'absorption et pendant la durée de vie de l'état excité.

Une première source de dépolarisation tient à l'orientation des molécules lors de leur interaction avec la lumière polarisée incidente : seules les molécules, dont les dipôles sont colinéaires à cette lumière, l'absorbent totalement et forment des dipôles excités de distribution semblable alors que les dipôles d'orientation différente ne peuvent absorber que partiellement cette lumière polarisée entraînant, de ce fait, une dépolarisation de la lumière.

Une seconde source de dépolarisation tient, lors de l'émission, à la différence d'orientation entre le moment dipolaire $\vec{M}$ de la molécule excitée et le moment $\vec{M}'$ de la molécule lorsqu'elle est redescendue au niveau le plus bas de l'état singulet d'excitation ainsi qu'à la direction de $\vec{E}'$ qui peut former un angle θ' avec $\vec{M}'$. Ces changements d'orientation dépendent de nombreux phénomènes susceptibles de se produire pendant l'état excité : perte d'énergie par transferts non radiatifs à d'autres espèces d'orientations voisines, réabsorption lorsque les concentrations sont trop élevées ou surtout mouvements browniens des molécules. En effet, si le temps de vie des molécules à l'état excité est comparable à celui nécessaire pour qu'une rotation brownienne se produise, une dépolarisation importante en résulte.

On peut donc en conclure que la dépolarisation dépend des nombreux facteurs susceptibles d'intervenir sur l'orientation des dipôles : viscosité et température du milieu, taille, forme et temps de vie à l'état excité des molécules.

Différentes formules ont été établies et par simplification, n'est mentionnée ici que la formule proposée par Perrin pour les molécules sphériques :

$$\frac{1}{p} \pm \frac{1}{3} = \left(\frac{1}{p_0} \pm \frac{1}{3} \right) \left(1 + \frac{\tau RT}{\eta V} \right)$$

- p_0 : polarisation limite ou intrinsèque des molécules
- τ : temps de vie à l'état excité
- R : constante des gaz parfaits
- T : température
- η : viscosité du milieu
- V : volume d'une molécule assimilée à une sphère.

Lorsque des molécules fluorescentes sont immobilisées dans un gel ou un milieu vitreux, elles ne peuvent changer d'orientation pendant la durée de leur vie à l'état excité. Leur émission de fluorescence présente la polarisation maximale $p_0 = \frac{1}{2}$. En milieu très fluide, les molécules de faibles volumes et de temps de vie à l'état excité très long, se réorientent de manière aléatoire, la dépolarisation est totale $p_0 = -\frac{1}{3}$.

Le taux de polarisation dans un milieu de viscosité donné est donc proportionnel au volume des molécules : il est élevé pour les grosses molécules, faible pour les petites molécules qui dépolarisent fortement la lumière incidente.

Applications de la polarisation de fluorescence

● **Structures et propriétés physicochimiques des molécules.** — Comme le montre la formule de Perrin, la mesure du taux de polarisation de fluorescence permet d'obtenir un certain nombre d'informations aussi bien sur les molécules elles-mêmes que sur le milieu environnant et leurs interactions. C'est ainsi qu'ont pu être déterminés les temps de vie à l'état excité, les dimensions de macroparticules, l'orientation des moments de transition ou la viscosité des milieux. Ceci implique que les molécules soient fluorescentes ou, ce qui est souvent le cas pour les protéines, qu'il soit procédé au préalable à un marquage par un fluorophore. La rhodamine, la fluorescéine et le chlorure de dansyle ont été utilisés à cet effet.

● **Études des membranes biologiques.** — La pénétration de « sondes fluorescentes » à l'intérieur de la double couche de phospholipides des membranes biologiques dans laquelle sont localisées des protéines et des glycoprotéines, se traduit du fait de la microviscosité du milieu par une augmentation de la polarisation du fluorophore. Des renseignements peuvent ainsi être obtenus sur les mouvements et la pénétration des molécules à l'intérieur des membranes et même parfois être utilisés à des fins diagnostiques (cancérologie).

● **Immunologie et dosage des médicaments.** — L'étude des interactions antigène-anticorps (Ag-Ac) peut être réalisée en marquant l'un des antagonistes, par exemple, l'antigène Ag, par un fluorophore F (AgF). La réaction antigène-anticorps est alors suivie en observant la polarisation de la lumière émise : le complexe Ag-AcF de dimension plus importante que AgF émet une lumière très polarisée dont l'intensité est proportionnelle à sa concentration.

En revanche, les molécules AgF, non fixées à l'anticorps possèdent une vitesse de rotation importante en raison de leur faible taille. Elles émettent une lumière très dépolarisée du fait de l'orientation aléatoire qu'elles acquièrent pendant la durée de leur vie de l'état excité.

Ce procédé a été utilisé pour déterminer les cinétiques de réaction, les affinités antigène-anticorps et, plus récemment, pour réaliser des déterminations immunochimiques, qualitatives et quantitatives de médicaments ou de stupéfiants dans les milieux biologiques.

Ces dosages sont basés sur la compétition se produisant en solution entre un anticorps spécifique Ac dont le nombre de sites de fixation est limité, un haptène M, médicament à doser dans un échantillon biologique et un réactif fluorescent constitué par ce même médicament marqué par un fluorophore MF.

Cette méthode très utilisée lors des suivis thérapeutiques ne nécessite pas d'étape de séparation. Elle est extrêmement rapide et se prête à l'automatisation (20 dosages en 10 minutes); elle permet d'atteindre une très grande sensibilité (par exemple : $0,2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, pour la digoxine sur un prélèvement de quelques microlitres).

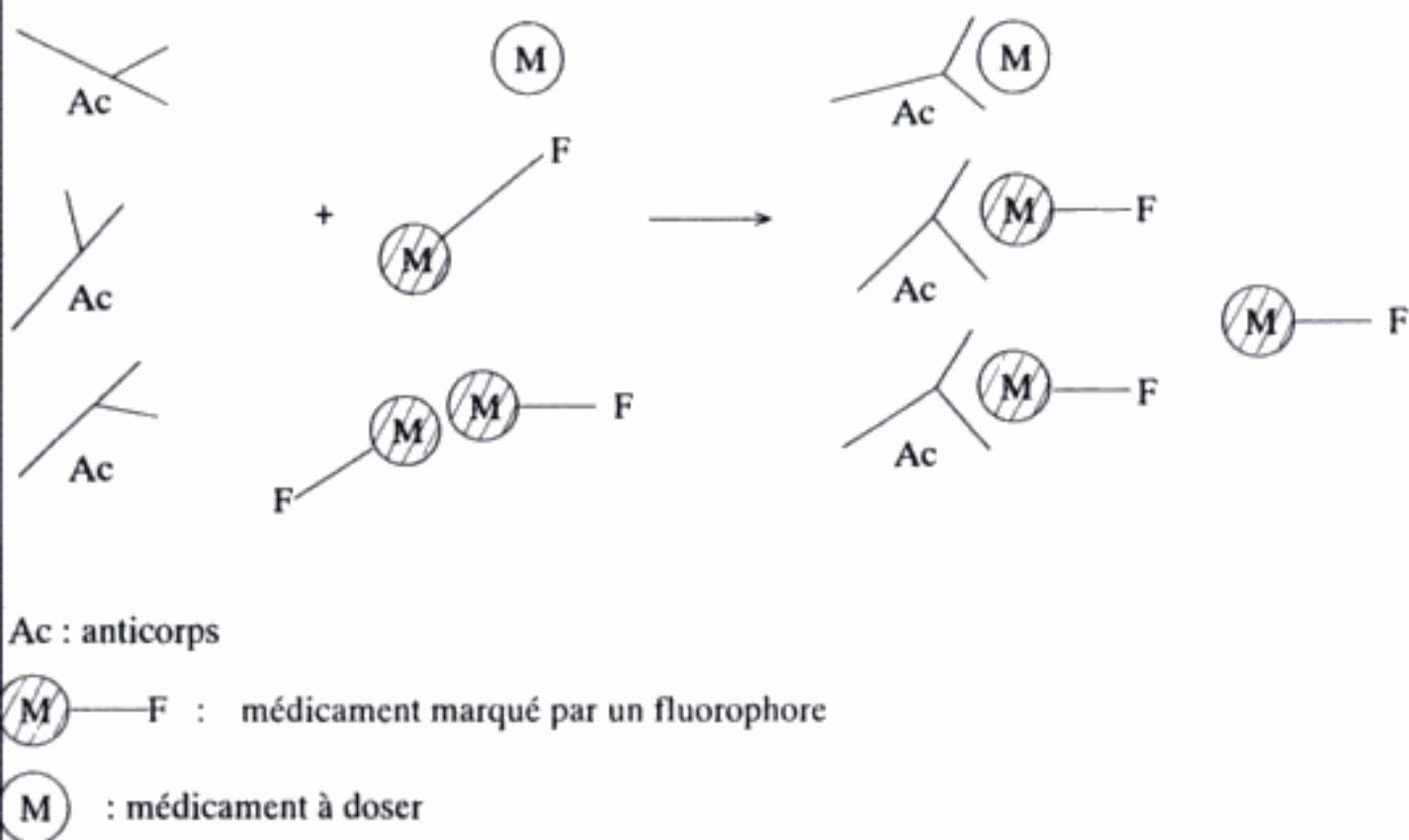


FIG. 63. — Schéma d'un dosage par compétition et polarisation de fluorescence.

La lumière fluorescente polarisée, émise par le couple Ac MF, est d'autant plus importante que la concentration du médicament M est faible. Dans ce cas, en effet, le nombre de molécules MF pouvant se fixer sur les sites de l'anticorps est plus élevé. La rotation du complexe Ac MF, molécule de grande taille, est ralentie et la lumière émise est peu dépolarisée.

Il en est tout autrement lorsque la concentration en médicament M est élevée. Le traceur MF non lié à l'anticorps dans le milieu liquide est en quantité importante, sa rotation est plus grande et la lumière émise subit une dépolarisation proportionnelle à la concentration de MF.

CHAPITRE VIII

SPECTROMÉTRIES DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

Outre les méthodes spectrales faisant intervenir, soit des transitions électroniques, soit des variations de l'énergie de vibration ou de rotation, il existe d'autres moyens d'étude fine de la structure des molécules, de découverte plus récente. Ils mettent en œuvre les spectres de résonance magnétique.

La spectrométrie de *résonance magnétique nucléaire* (RMN) conduit à des certitudes structurales qui ne pourraient être acquises que très difficilement par d'autres méthodes. Elle est de ce point de vue, complémentaire de la spectrométrie infrarouge, mais d'un intérêt pratique encore plus grand. Les spectres de *résonance paramagnétique électronique*, pour leur part, permettent d'étudier les mécanismes réactionnels, mettant en jeu des radicaux libres.

La production de ces différents spectres correspond encore, à l'absorption de radiations électromagnétiques par la matière, mais la variation d'énergie entraînée est de beaucoup inférieure à celle que l'on observe dans les autres méthodes spectrales, même dans le domaine de la rotation pure.

Il en résulte que les fréquences utilisées sont très basses et que corrélativement, les longueurs d'onde sont grandes, de l'ordre du mètre et même au delà.

ORIGINE DES SPECTRES

L'absorption de quantités d'énergie aussi faibles ne peut donc pas faire intervenir le mouvement relatif de deux atomes ou de leurs constituants, électrons et noyaux. Elle fait appel aux variations du spin des particules.

Spin électronique et spin nucléaire

La notion de spin a été rappelée précédemment dans le cas de l'électron. Bien que d'après Dirac, on ne connaisse le spin que par ses attributs, on considère classiquement qu'il est lié à la rotation de la particule sur elle-même.

A ce mouvement de l'électron sont associées deux grandeurs :

- le nombre quantique de spin s qui ne peut prendre que deux valeurs $+ 1/2$ et $- 1/2$;

- le vecteur moment angulaire de rotation $\vec{A}$ porté par l'axe de rotation.

Mais cette propriété de l'électron de posséder un spin, ne lui est pas particulière. Les nucléons, proton et neutron, en sont également doués; dans un noyau atomique, il y a couplage des spins des différents nucléons qui le constituent pour réaliser un *spin nucléaire*.

Comme les électrons circulant autour du noyau, les protons et les neutrons se répartissent à l'intérieur du noyau en couches correspondant à des énergies bien définies. Dans ces couches, ils s'associent par paires, de telle sorte que les spins des deux protons (ou des deux neutrons) associés soient opposés.

Trois cas peuvent alors se produire :

- *le noyau possède à la fois un nombre pair de protons et un nombre pair de neutrons*. Ces deux types de particules couplent 2 à 2 leurs spins. Il en résulte que la résultante des vecteurs moment angulaire est nulle, et que le noyau n'est pas doué de spin.

- *Dans le noyau coexistent un nombre pair de l'un des types (protons ou neutrons) et un nombre impair de l'autre (neutrons ou protons)*. Tous les nucléons du premier type sont appariés et la résultante des « vecteurs spin » est nulle dans ce cas, mais du fait du nombre impair de particules du deuxième type, l'une d'elles reste isolée et possède un moment angulaire qui n'est pas annihilé par un moment opposé. Au niveau du noyau considéré comme une seule particule, on observe ainsi un moment angulaire, et donc un spin nucléaire, qui est dû au dernier nucléon non apparié. Ce spin devrait donc être toujours égal à $\pm 1/2$; toutefois, en raison de la répartition des nucléons en plusieurs niveaux énergétiques à l'intérieur du noyau, on peut observer des spins qui sont des multiples impairs de $1/2$, $3/2$, $5/2$, etc...

- *Un noyau peut posséder un nombre impair de neutrons et de protons*. Il y a donc pour chaque espèce un nucléon non apparié. Le spin total est donc la somme des deux spins non appariés. Il est donc un nombre entier et très généralement égal à l'unité.

Valeur du spin nucléaire des différents atomes

Pour connaître la valeur de ce spin pour chaque type de noyau, il convient de se souvenir que le numéro atomique de l'élément correspond au nombre de protons et que le nombre de masse (masse atomique) donne le nombre total de nucléons : protons et neutrons.

Dans le cas où un élément possède plusieurs isotopes, la masse atomique et donc le nombre de neutrons varie pour chacun d'eux. Il en résulte que le spin nucléaire est la propriété d'un isotope donné et non pas d'un élément.

On peut déduire de ce qui précède un certain nombre de règles simples :

a) les noyaux ayant un numéro atomique pair et un nombre de masse pair ne sont pas doués de spin :

c'est le cas par exemple de :



b) Les noyaux de nombre de masse impair ont un spin qui est multiple impair de $1/2$. C'est le cas de : ${}^1_1\text{H}$, ${}^{13}_6\text{C}$, ${}^{15}_7\text{N}$, ${}^{19}_9\text{F}$, ${}^{31}_{15}\text{P}$ dont le spin a une valeur de $1/2$, mais aussi de ${}^{11}_4\text{B}$ de spin $3/2$ et de ${}^{17}_8\text{O}$ de spin $5/2$.

c) Le spin des noyaux de nombre de masse pair et de nombre atomique impair est un nombre entier. C'est le cas du deuterium ${}^2_1\text{H}$ et de l'azote ${}^{14}_7\text{N}$.

Propriétés magnétiques dues au spin

L'existence du spin, donc du mouvement de rotation, confère à la particule (électron ou noyau) des propriétés magnétiques dont rendent compte deux valeurs :

- le nombre quantique magnétique m ,
- le vecteur moment magnétique $\vec{\mu}^*$ porté par l'axe de rotation et donc colinéaire au vecteur moment angulaire $\vec{A}$.

Ces valeurs peuvent être reliées au nombre quantique de spin symbolisé par I (et non plus par s qui est un cas particulier et ne peut prendre que les valeurs $\pm 1/2$) et au moment angulaire.

Le moment magnétique est donné par l'équation

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{A} \quad (1)$$

ou γ est une constante caractéristique du noyau d'un atome donné et nommée *rapport gyromagnétique* (ou *magnétogyrique*).

* Le noyau, particule chargée, se comporte comme tournant sur lui-même et est assimilable à une microboucle de courant de surface S et d'intensité i . Dans ce cas $\mu = iS$.

Si le spin nucléaire est dû à celui d'un proton non apparié, cette notion de moment magnétique ne pose aucune difficulté puisque cette particule porte une charge positive.

En revanche, si le spin nucléaire est dû à un neutron isolé, son caractère électriquement neutre ne permet pas d'envisager aussi simplement l'existence d'un tel vecteur moment magnétique.

En réalité, les progrès de la physique ont permis de découvrir que ces deux nucléons, proton et neutron, sont constitués chacun de 3 *quarks*. Ces nouvelles particules sont de deux types, dont les charges (exprimées par rapport à celle de l'électron) sont $+2/3$ et $-1/3$. Chaque type de nucléon possède nécessairement les deux types de quarks : un proton est constitué de 2 particules de charge $+2/3$ et d'une de charge $-1/3$ et un neutron d'une particule de charge $+2/3$ et de deux de charge $-1/3$. Ce dernier même s'il est neutre par compensation est donc lui aussi porteur de charges électriques.

**Comportement d'une particule douée de spin
dans un champ magnétique**

L'axe d'un système en rotation, par exemple d'une toupie, placé dans le champ de la pesanteur, tend à se mettre en mouvement autour de la direction du champ, c'est-à-dire dans l'exemple choisi autour de la verticale, en décrivant la surface d'un cône. L'axe du cône est la direction Oz du champ. Le mouvement ainsi décrit est appelé *mouvement de précession*, autour de la direction du champ et a lieu avec une vitesse angulaire ω_0 correspondant à une fréquence ν_0

$$\omega_0 = 2\pi\nu_0 \quad (2)$$

Une particule douée de spin placée dans un champ magnétique uniforme $\vec{H}_0$ présente un phénomène identique (fig. 64) : le vecteur moment angulaire $\vec{A}$ correspondant à la rotation de la particule, et le vecteur moment magnétique $\vec{\mu}$ colinéaire, décrivent autour de la direction du champ un mouvement de précession dit de *Larmor*. La vitesse angulaire est proportionnelle au champ et le facteur de proportionnalité est le rapport gyromagnétique

$$\omega_0 = \gamma H_0^* \quad (3)$$

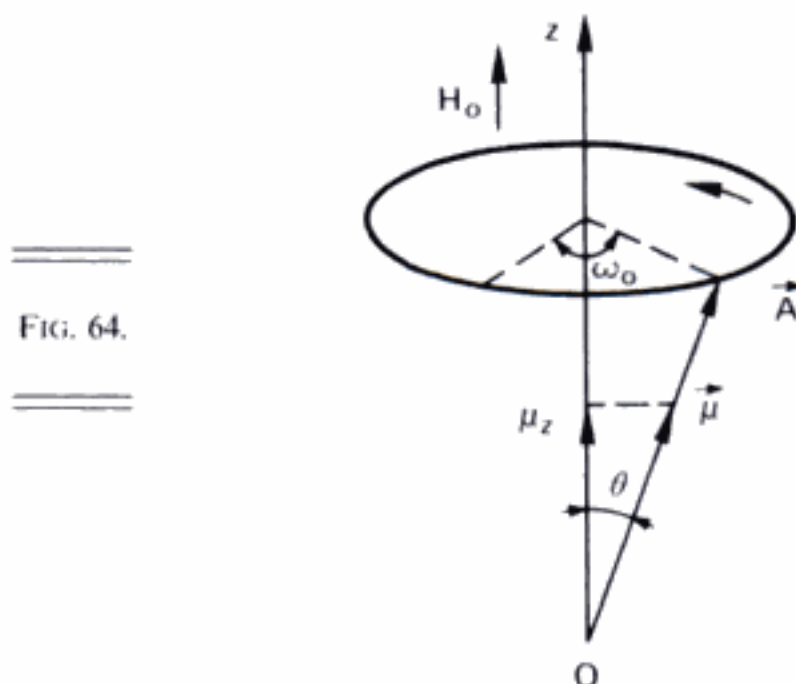


FIG. 64.

* On tend de plus en plus à parler du champ d'induction magnétique $\vec{B}$, au lieu du champ $\vec{H}_0$.

Dans le vide, $\vec{B}$ et $\vec{H}$ sont liés par la relation :

$$\vec{B} = \mu_0 \vec{H}$$

$\vec{B}$ est exprimée en Tesla : 1 Tesla = 10^4 gauss.

μ_0 est la susceptibilité magnétique du milieu, qu'il ne faut pas confondre avec le moment magnétique vectoriel qui est malencontreusement exprimé par le même symbole.

Cette équation est dite relation de Larmor. Comme dans tous les phénomènes qui se situent à l'échelle moléculaire ou atomique, il est nécessaire de considérer des restrictions quantiques. La quantification s'exprime par le fait que l'angle θ , que font les vecteurs moment angulaire et moment magnétique, avec la direction Oz du champ, ne peut prendre que certaines valeurs. Celles-ci sont telles que la projection de $\vec{A}$ sur cet axe Oz soit :

$$\vec{A} \cos \theta = \frac{h}{2\pi} m \quad (4)$$

où m est le nombre quantique magnétique qui peut avoir une valeur entière ou demi entière.

Si l'on considère la projection de $\vec{\mu}$ sur Oz, elle doit être telle que

$$\mu_z = \vec{\mu} \cos \theta = \frac{\gamma h}{2\pi} m^* \quad (5)$$

A partir de cette valeur μ_z on peut déterminer la valeur du vecteur magnétique $\vec{\mu}$ dont la valeur absolue est :

$$\vec{\mu} = \mu_z \times \frac{1}{\cos \theta} = \gamma \frac{h}{2\pi} \frac{m}{\cos \theta} \quad (6)$$

En considérant un vecteur spin $\vec{I}$ dont la valeur numérique est $\frac{m}{\cos \theta}$ le vecteur moment magnétique devient :

$$\vec{\mu} = \gamma \frac{h}{2\pi} \vec{I} \quad (7)$$

La comparaison des équations (6) et (7) montre que $\vec{I} \cos \theta = m$.

La projection du vecteur $\vec{I}$ sur l'axe Oz ne peut prendre que certaines valeurs et donc la valeur de l'angle θ est quantifiée.

Pour la valeur la plus faible de θ , $\vec{I} \cos \theta$ prend la plus forte valeur possible; soit I cette valeur qui peut être entière ou demi entière. La valeur la plus grande de l'angle est $\pi - \theta$ et correspond à $-I$.

m ne peut donc prendre que $2I + 1$ valeurs.

La condition de quantification devient alors

$$\mu_z = \frac{\gamma h}{2\pi} m$$

Dans les cas les plus fréquemment rencontrés, $I = 1/2$. Il ne peut alors exister que deux valeurs permises :

$$\mu_z = \pm \gamma \frac{h}{4\pi} \quad (8)$$

* Dans certains ouvrages μ_z est simplement désigné par μ .

En résumé : ces vecteurs $\vec{\mu}$ des particules considérées, électrons ou noyaux, en l'absence de tout champ, étaient orientés dans toutes les directions, d'une façon totalement aléatoire. En présence d'un champ magnétique $\vec{H}_0$, ils prennent donc un nombre limité d'orientations.

Ces vecteurs font en effet avec la direction du champ un angle θ défini par

$$\cos \theta = \frac{\gamma}{\mu} \frac{h}{2\pi} m \quad (9)$$

Dans le cas où m ne peut prendre que les deux valeurs $-1/2$ et $+1/2$, les deux valeurs de θ sont égales et de signe opposé.

La projection μ_z a donc toujours dans ce cas la même valeur absolue, et ne varie que par son orientation parallèle ou antiparallèle au champ. Les particules dont le spin est orienté antiparallèlement au champ sont désignées par l'indice α . Celles dont le spin est orienté parallèlement au champ sont appelées β .

Énergie des particules douées de spin

L'énergie due au spin de la particule est liée à la vitesse ω_0 du mouvement de précession, c'est-à-dire d'après la relation de Larmor au champ H_0 , mais elle dépend aussi du vecteur moment magnétique.

Elle est donnée par :

$$E = - \vec{\mu} \cdot \vec{H}_0 \quad (10)$$

Elle peut être exprimée en fonction du rapport gyromagnétique en remplaçant $\vec{\mu}$ par sa valeur tirée de l'équation (7)

$$E = - \gamma \frac{h}{2\pi} \vec{I} \cdot \vec{H}_0 \quad (11)$$

Si l'on considère le cas le plus fréquent où la projection de $\vec{I}$ sur l'axe Oz parallèle à $\vec{H}_0$ ne peut prendre que les valeurs $+1/2$ et $-1/2$, les deux niveaux énergétiques sont aisément calculés :

E_β correspond au niveau le plus bas où la valeur du spin est $1/2$ c'est-à-dire à la position parallèle de μ_z par rapport à $\vec{H}_0$

$$E_\beta = - \gamma \frac{h}{4\pi} \|\vec{H}_0\| \quad (12)$$

E_α niveau le plus élevé a pour valeur :

$$E_\alpha = \gamma \frac{h}{4\pi} \|\vec{H}_0\| \quad (13)$$

Résonance magnétique

Puisque en présence du champ magnétique $\vec{H}_0$, existent plusieurs niveaux énergétiques (2 si les valeurs du spin sont $\pm 1/2$), il doit être possible d'induire l'absorption d'un quantum d'énergie, qui fasse passer la particule d'un état fondamental à un état excité, c'est-à-dire dans le cas le plus habituel de l'état E_β à l'état E_α .

Le quantum d'énergie correspond à :

$$\Delta E = E_\alpha - E_\beta = h\nu_0 = \gamma \frac{h}{2\pi} \|\vec{H}_0\|$$

Il est simple de tirer la fréquence ν_0 de cette équation

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} \|\vec{H}_0\| \quad (14)$$

Si l'on soumet donc au champ magnétique d'une radiation monochromatique sinusoïdale de fréquence ν_0 , le système dans lequel les deux états énergétiques E_α et E_β ont été séparés grâce à un champ magnétique uniforme $\vec{H}_0$, on peut observer l'absorption d'un quantum d'énergie par la particule. On dit que celle-ci a subi une *résonance magnétique*.

L'absorption de la radiation électromagnétique provient du fait que le mouvement de précession du vecteur moment magnétique présente alors la même fréquence ν_0 que la radiation elle-même. Il y a donc alors transfert d'énergie par résonance magnétique*.

REMARQUE :

1) En réalité il ne faut pas considérer le mouvement de précession du vecteur moment magnétique de chaque particule, mais celui de la résultante de tous ces vecteurs qui est le *mouvement magnétique macroscopique* M souvent appelé *vecteur magnétisation*.

2) Il est très important de noter que dans le cas des spectrométries de résonance magnétique, contrairement à toutes les méthodes spectroscopiques qui ont été étudiées précédemment, la fréquence absorbée n'est pas définie d'une façon absolue. Elle est en effet proportionnelle au champ magnétique H_0 , qui induit la séparation des particules en niveaux énergétiques distincts.

* L'aspect quantitatif fait appel aux équations de BLOCK qui sortent du cadre volontairement limité de cet ouvrage. Seule une explication qualitative sommaire est proposée ici.

PRINCIPE DE LA DÉTERMINATION DES SPECTRES DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

L'échantillon à étudier est introduit dans un champ magnétique $\vec{H}_0$ continu et orienté suivant un axe Oz , qui réalise la séparation en deux (ou n) niveaux énergétiques.

L'énergie nécessaire pour provoquer la résonance est fournie par un champ $\vec{H}_1$ sinusoïdal de radio-fréquence ν donc monochromatique. Ce deuxième champ est orienté perpendiculairement au premier suivant un axe Oy . Or tout mouvement sinusoïdal peut être décomposé en deux mouvements circulaires uniformes de sens opposés et de même vitesse.

Dans le cas du champ $\vec{H}_1$, ces deux mouvements circulaires se produisent dans un plan perpendiculaire à Oz , soit le plan xOy . (Fig. 65).

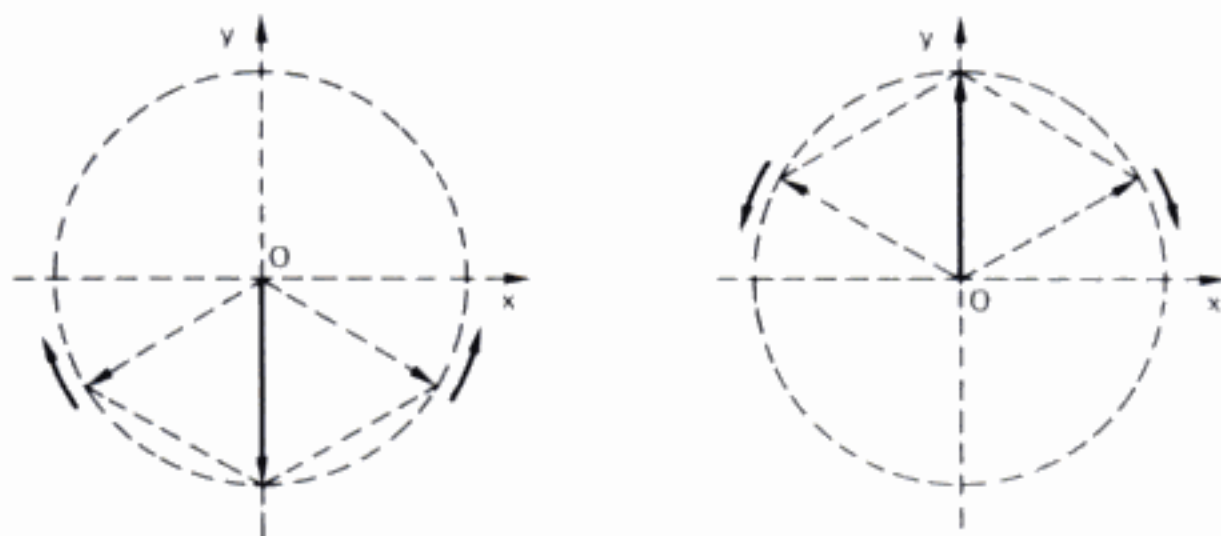


FIG. 65.

L'une des composantes correspond à un mouvement de même sens que la précession du vecteur magnétisation M , et la résonance magnétique a lieu, lorsque les deux vitesses angulaires, donc les deux fréquences, sont les mêmes.

Cette résonance produit une absorption d'énergie intéressant donc une seule composante circulaire du mouvement sinusoïdal. Ceci entraîne la conséquence que la vibration résultante correspondant au champ $\vec{H}_1$ ne se situe plus obligatoirement sur l'axe Oy , comme le montre la figure 66.

Cette vibration, donc ici le champ $\vec{H}_1$ présente après absorption deux composantes l'une selon Oy et l'autre selon Ox (fig. 66).

Une bobine réceptrice placée selon Ox est donc soumise à un champ sinusoïdal et induit un courant électrique, qui est ensuite amplifié et enregistré.

Le principe d'un spectromètre de résonance magnétique est donc ainsi indiqué par la figure 67.

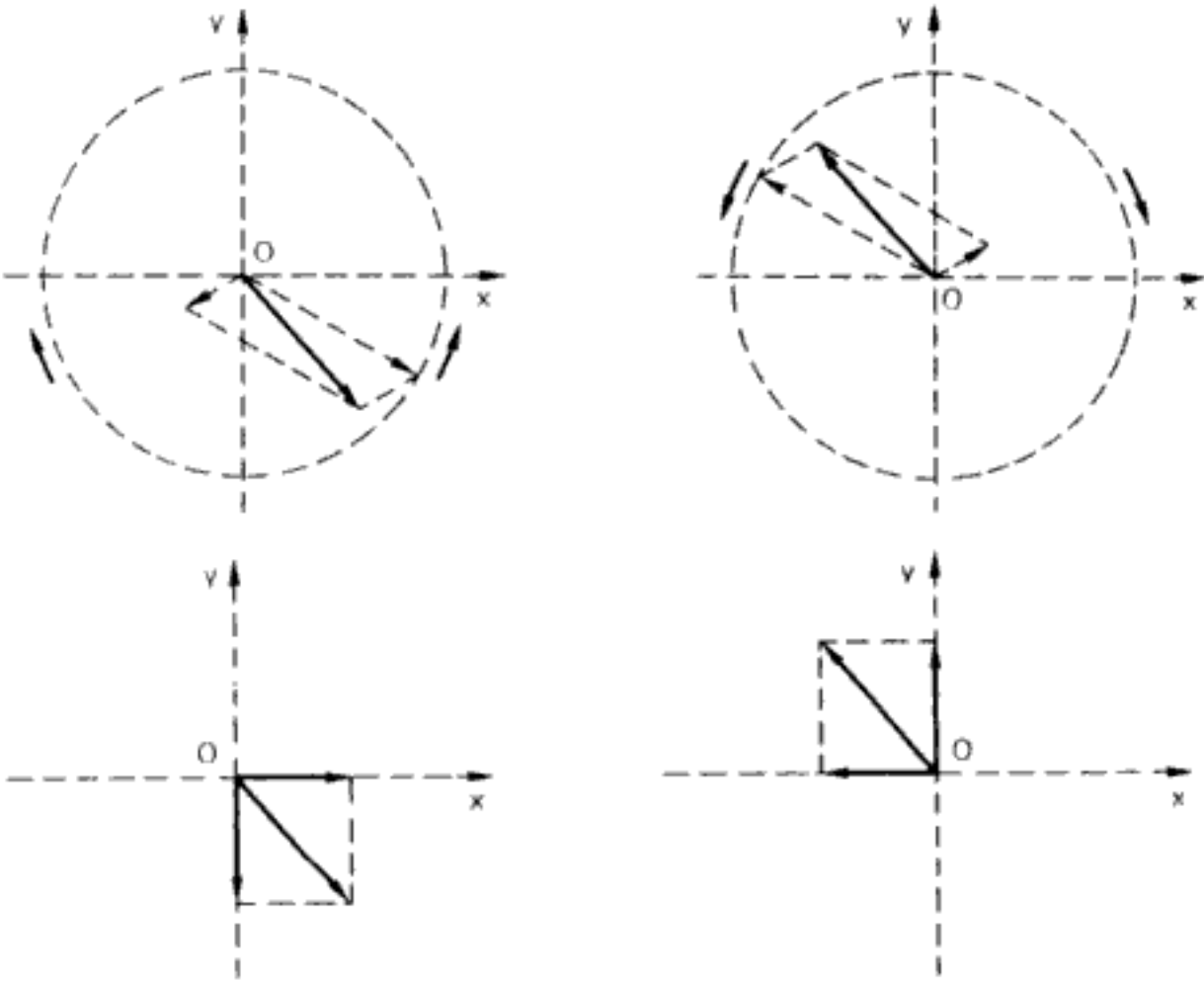


FIG. 66.

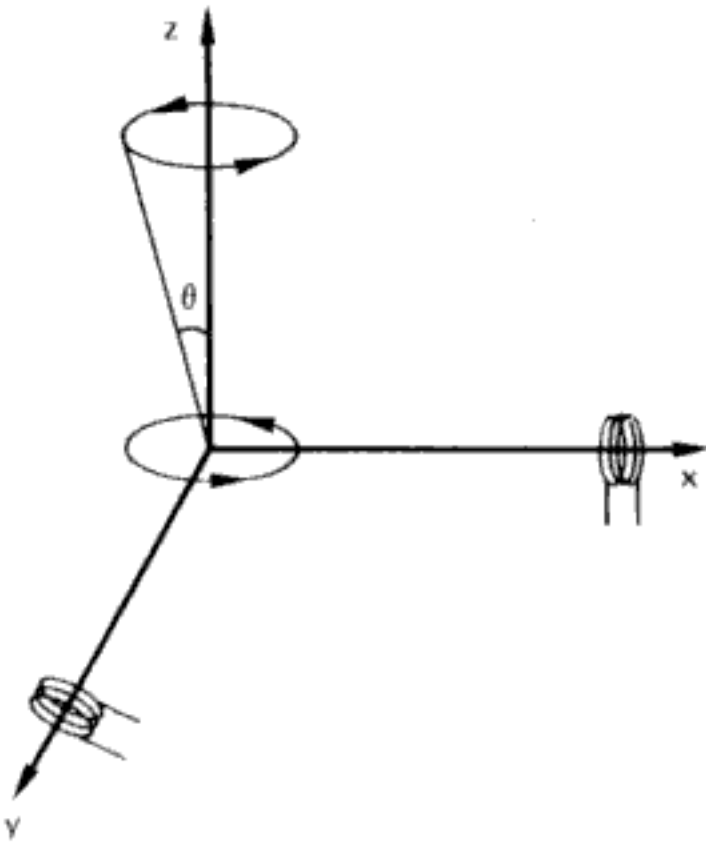


FIG. 67.

Pour faire varier la fréquence et ainsi atteindre la résonance magnétique, on peut théoriquement faire varier le champ $\vec{H}_1$ mais cela est techniquement difficile. Il est beaucoup plus aisé de faire varier le champ continu $\vec{H}_0$ auquel la fréquence est proportionnelle, et l'on mesure alors la valeur du champ $\vec{H}_0$ où se produit la résonance.

Phénomènes de relaxation

Dans toutes les méthodes spectrales dont l'étude a été faite précédemment, la différence d'énergie entre le niveau fondamental et le niveau excité est importante et il en résulte, d'après la loi de Boltzmann que la population de l'état excité est toujours beaucoup plus faible que celle de l'état fondamental.

Il n'en est plus de même dans le cas de la résonance magnétique, où les énergies sont très voisines. La différence de peuplement des deux niveaux est donc faible. Or il est important de rappeler que la probabilité d'absorption, c'est-à-dire le passage d'un niveau énergétique moins élevé à un niveau plus élevé, est identique à la probabilité d'émission induite par la transition inverse. Si donc les populations étaient identiques, il existerait une impossibilité absolue de mesurer macroscopiquement une absorption (ou une émission) quelconque. Ainsi il y a lieu dans le domaine des spectres de résonances magnétiques de se préoccuper de cette question.

● **Différence de peuplement entre les niveaux.** — dans le cas le plus simple de deux niveaux α et β la loi de Boltzmann donne le nombre de particules dans chaque état (v. p. 18) :

$$N_{\alpha} = N_{\beta} e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = N_{\beta} e^{-\gamma \frac{h}{2\pi} \times \frac{H_0}{kT}}$$

Le rapport entre les deux nombres devient, en posant

$$\varepsilon = \gamma \frac{h}{2\pi} \cdot \frac{H_0}{kT}$$

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = e^{-\varepsilon} \simeq 1 - \varepsilon \quad \text{car } \varepsilon \text{ est très petit.}$$

Il en résulte que les deux valeurs N_{β} et N_{α} diffèrent très peu de $\frac{N}{2}$.

Si N est le nombre total de particules, N_{α} correspondant au niveau d'énergie le plus élevé est le moins peuplé, N_{β} , le plus peuplé.

$$N_{\alpha} = \frac{N}{2} (1 - \varepsilon)$$

$$N_{\beta} = \frac{N}{2} (1 + \varepsilon)$$

ε est toujours très petit, par exemple à 300°K et pour un champ de 14 000 gauss et dans le cas du proton, où le rapport gyromagnétique γ est le plus favorable, il est de $1,5 \times 10^{-6}$.

L'excédent $\Delta N = \varepsilon N$ de particules au niveau d'énergie le plus faible peut s'écrire :

$$\Delta N = \frac{\gamma h}{2\pi K} \cdot \frac{NH_0}{T}$$

Le premier terme est une constante pour une particule donnée. Les seuls facteurs sur lesquels il est possible d'intervenir sont :

- le nombre N ; et l'on peut pour ce faire augmenter la concentration,
- le champ $\vec{H_0}$. Ceci explique l'intérêt d'appareils à champ élevé,
- la température T . Plus elle est faible plus ΔN est grand. Mais il faut tenir compte de la solubilité qui diminue en général avec l'abaissement de température.

• **Influence du temps : temps de saturation.** — Les échanges d'énergie entre les particules et la radiation électromagnétique sont donc observables uniquement en raison du petit nombre de particules $\Delta N = \varepsilon N$ en excès dans le niveau d'énergie inférieur, par rapport au niveau supérieur. Mais l'absorption d'énergie fait passer de plus en plus de particules du niveau β au niveau α . L'excès ΔN tend donc à disparaître et sa décroissance est d'autant plus rapide que l'intensité de l'énergie électromagnétique fournie est plus grande. On atteint ainsi au bout d'un temps t_{sat} la saturation, c'est-à-dire l'égalité absolue entre les populations des deux niveaux. Au bout d'un temps t l'excès ΔN est

$$\Delta N = \Delta N_0 e^{-\frac{t}{t_{\text{sat}}}}$$

La décroissance de cet excès est donc exponentielle et l'on devrait atteindre rapidement une limite de temps à partir de laquelle il ne serait plus possible d'observer l'absorption d'énergie.

• **Relaxation.** — Cependant au cours de la détermination d'un spectre de résonance magnétique, le signal d'absorption montre une intensité quasi indépendante du temps. Il se produit en effet des phénomènes de déperdition de l'énergie acquise, qui font revenir la particule à son état énergétique initial : ce sont les phénomènes de relaxation.

La relaxation a lieu par échange d'énergie entre la particule et son environnement selon deux processus :

Relaxation spin-réseau. — Elle provient de l'agitation thermique des molécules ou atomes du milieu environnant. Certains de ceux-ci produisent des champs magnétiques fluctuants dont certains ont une fréquence identique à celle des particules excitées.

L'échange d'énergie conduisant au retour de la particule à l'état fondamental est d'autant plus important que la molécule qui la contient est reliée plus

fortement à ses voisines. Ceci explique que le temps de relaxation soit beaucoup plus court dans les solides que dans les liquides. C'est la raison pour laquelle, par assimilation d'un solide à un réseau cristallin ce phénomène est appelé relaxation spin-réseau.

Dans les milieux biologiques (biologie humaine ou bromatologie), qui présentent une viscosité plus ou moins grande, la croissance de ce paramètre entraîne logiquement une diminution du temps de relaxation. Il en est de même dans le cas de l'existence de liaisons entre substances thérapeutiques de faible masse et macromolécules (protéines).

Une autre origine de la diminution du temps de relaxation spin-réseau, correspond à la présence d'impuretés magnétiques dans l'échantillon, qu'il s'agisse de débris métalliques ou d'ions provenant d'éléments de transition et possédant un caractère paramagnétique. Les échanges d'énergie conduisent alors très rapidement à un retour à l'état fondamental.

Ce processus de relaxation est également exponentiel. Il correspond à un temps t_1 , également appelé *temps de relaxation longitudinal*. En réalité, c'est le temps de demi relaxation qui est mesuré. Il est de l'ordre de 10^{-4} secondes pour les solides et varie de 10^{-2} à 10^2 secondes pour les liquides.

Relaxation spin-spin. — Une particule donnée (noyau doué de spin) est située au sein d'une molécule dans laquelle existent de nombreux autres noyaux également doués de spin, qui sont tous en précession à leur propre fréquence de Larmor et qui peuvent donner des champs magnétiques additionnels variant rapidement et périodiquement en influençant la particule considérée. Il en résulte une perte de cohérence de phase entre les particules ayant subi la résonance. Ce phénomène est particulièrement important avec les noyaux de spin égal à 1, comme l'azote 14. Cette relaxation est également exponentielle par rapport au temps. Elle est caractérisée par un temps de demi relaxation t_2 appelé temps de relaxation spin-spin ou *temps de relaxation transversal*.

Son influence est prépondérante dans le cas de l'étude de liquides.

Les phénomènes de saturation et de relaxation tendent à se compenser mais comme cela a été mentionné ci-dessus, la saturation est d'autant plus rapide que l'intensité de l'énergie électromagnétique fournie, c'est-à-dire du champ H_1 est grande. Il y a donc lieu d'éviter de trop grandes valeurs de ce champ.

● **Largeur des raies.** — La diminution du temps de relaxation global n'est pas nécessairement un facteur favorable. En effet, selon le principe d'incertitude de Heisenberg, plus le temps de maintien au niveau excité est court, moins la valeur de l'énergie de ce niveau est bien définie. La possible variation d'énergie de cet état ΔE est reliée à la durée de vie τ par :

$$\Delta E \cdot \tau = h$$

h étant la constante de Planck.

Cette variation d'énergie E entraîne une variation concomitante de la fréquence de résonance ν et donc un élargissement de la raie. Or l'aire sous

la courbe restant proportionnelle au nombre de particules ayant subi la résonance, tout élargissement entraîne, *ipso facto*, une diminution de la hauteur du signal. A la limite, cette diminution peut conduire à la disparition de celui-ci, par confusion avec le bruit de fond de l'enregistrement. C'est la raison pour laquelle dans les appareils classiques dits à onde continue, seuls les liquides peuvent être étudiés. Ceci explique également, par influence du temps de relaxation spin-spin t_2 l'élargissement des pics correspondant aux hydrogènes d'un groupement fonctionnel amine en RMN du proton.

Un autre facteur d'élargissement et donc de moindre définition des spectres vient de l'inhomogénéité du champ magnétique $\vec{H}_0$. Pour éviter au maximum cet inconvénient, il est nécessaire de prendre les précautions suivantes :

- maintien de la température de l'aimant produisant le champ à une valeur fixe;
- rotation de l'échantillon qui doit évidemment être en solution limpide.

REMARQUE : Le nombre de noyaux qui intervient dans la résonance magnétique est déjà faible dans le cas favorable de la résonance magnétique du proton où l'isotope ^1H correspond à la quasi totalité des atomes d'hydrogène étudiés.

A fortiori, dans le cas du carbone 13, le nombre de noyaux subissant la résonance par rapport au nombre total d'atomes de carbone est très faible, puisque la proportion d'isotopes ^{13}C dans un échantillon de carbone naturel n'est que de 1,1 %.

Pour obtenir l'enregistrement d'un spectre avec des pics d'intensité suffisante, il est alors nécessaire d'accumuler un grand nombre d'enregistrements. Pour ce faire, on utilise des systèmes fondés sur l'envoi dans l'échantillon d'une succession d'impulsions magnétiques brèves mais intenses, séparées par un temps qui est de l'ordre de grandeur des temps de relaxation. Les données ainsi accumulées sont traitées mathématiquement par une calculatrice en utilisant le principe de la transformation de Fourier.

Principaux spectres de résonance magnétique

Dans le cas où il s'agit de noyaux, il y a résonance magnétique nucléaire (RMN) qui peut intéresser de nombreux atomes; les plus classiquement étudiés sont le proton et le carbone 13. Si ce sont des électrons qui sont concernés, on parle de résonance paramagnétique électronique (R.P.E.) ou encore de résonance du spin électronique (R.S.E.).

Évidemment, ni les noyaux atomiques, ni les électrons ne sont indépendants. Ils font partie d'un atome, lui-même lié le plus souvent à d'autres atomes au sein d'une molécule. Il est donc possible d'envisager une influence réciproque de ces particules les unes sur les autres. Mais un trait important de cette technique est que la molécule dans son ensemble est transparente à la radiation. L'on peut donc examiner sans interférence notable une seule espèce de particules. Ceci est particulièrement vérifié pour l'électron et pour le proton.

RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE

Il existe de nombreuses possibilités d'étude de la résonance magnétique des noyaux atomiques. Bien que grâce à la résonance quadripolaire on puisse étudier d'autres types de noyaux, les spectres les plus fréquemment déterminés sont ceux des noyaux dont le spin est égal à $\pm 1/2$. Ce sont les seuls qui seront envisagés ici.

Outre ceux du proton et du carbone 13, il est possible d'étudier les spectres de nombreux éléments.

A titre d'exemples, et sans que cette liste soit exhaustive, on peut citer ${}^7\text{Li}$, ${}^{23}\text{Na}$, ${}^{39}\text{K}$, ${}^{41}\text{K}$, ${}^{199}\text{Hg}$, ${}^{27}\text{Al}$, ${}^{29}\text{Si}$, ${}^{119}\text{Sn}$, ${}^{207}\text{Pb}$, ${}^{15}\text{N}$, ${}^{31}\text{P}$, ${}^{77}\text{Se}$, ${}^{125}\text{Te}$, ${}^{19}\text{F}$.

Les domaines spectraux intéressés par ces résonances sont différents et ne se recouvrent pas, comme le montre la valeur des fréquences de résonance (tableau XVII).

Fréquence de résonance

L'équation fondamentale (14) qui donne la fréquence de résonance ν_0 d'un noyau montre que celle-ci dépend de deux facteurs :

- le rapport gyromagnétique γ qui est variable selon la nature du noyau considéré;
- le champ magnétique $\vec{H}_0$.

● **Influence du rapport gyromagnétique.** — Chaque type de noyau est caractérisé par une valeur différente de ce rapport. C'est le proton qui présente la valeur la plus élevée suivi par le fluor, le phosphore, le carbone ${}^{13}\text{C}$ et l'azote ${}^{15}\text{N}$. Il en résulte que pour un champ magnétique H_0 donné, la résonance de chacun apparaît dans une zone de fréquence différente (tableau XVII).

Tableau XVII. — FRÉQUENCES DE RÉSONANCE (en mégahertz)
DES PRINCIPAUX NOYAUX INTÉRESSANT EN RMN
POUR UN CHAMP DE 23 500 GAUSS.

${}^1\text{H}$	100,1	${}^{13}\text{C}$	25,2
${}^{19}\text{F}$	94,1	${}^2\text{H}$	15,4
${}^{31}\text{P}$	40,5	${}^{15}\text{N}$	10,1

● **Influence de la valeur du champ magnétique.** — Il a déjà été mentionné que la fréquence dépend de la valeur du champ magnétique H_0 . Le tableau XVIII donne, dans le cas de la résonance magnétique du proton, l'ordre de grandeur des fréquences de résonance en fonction des valeurs du champ magnétique les plus fréquemment utilisées.

Tableau XVIII. — FRÉQUENCES DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE DU PROTON
EN FONCTION DES CHAMPS MAGNÉTIQUES
OBTENUS DANS QUELQUES APPAREILS COMMERCIAUX.

Champ magnétique H_0 (en gauss)	Fréquence (en MHz)
14 100	60
23 500	100
51 700	220
70 500	300

Champ magnétique efficace

L'équation (14) donnant la fréquence de résonance, permet de calculer la valeur du champ magnétique extérieur susceptible de faire résonner un noyau donné isolé :

$$H_0 = \frac{2\pi}{\gamma} \nu_0 \quad (14)$$

Mais autour des noyaux existent toujours des électrons, puisque l'on a très largement affaire à des atomes neutres, eux-mêmes engagés dans les liaisons chimiques pour former des molécules.

Dans le cas le plus simple de l'atome d'hydrogène, le mouvement sur son orbite de l'unique électron, est assimilable à un courant électrique dans une spire conductrice, puisque dans les deux cas, il y a mouvement de particules électriquement chargées.

En présence d'un champ magnétique extérieur $\vec{H}_0$ il y a ainsi création d'un champ magnétique induit $\vec{h}$ opposé à $\vec{H}_0$.

En généralisant, chaque noyau atomique est entouré par un nuage électronique dont la densité dépend de la nature des liaisons chimiques établies entre atomes.

En raison des rotations très rapides auxquelles sont soumises les molécules dans un liquide, on peut considérer que pendant un certain laps de temps, lors de chaque rotation, l'«anneau électronique», correspondant au mouvement de chaque électron, se trouve en position convenable pour produire un tel champ induit. Le noyau situé au centre de cet «anneau» est ainsi soumis en moyenne à un champ supplémentaire $\vec{h}$ antiparallèle à $\vec{H}_0$ et dont la valeur dépend du nombre d'électrons situés au voisinage du noyau donc de la densité électronique.

Le noyau n'est donc pas soumis au champ extérieur $\vec{H}_0$ mais à un champ local $\vec{H}_{\text{loc}}$ dit également champ efficace $\vec{H}_{\text{eff}}$ dont la valeur est donnée par

$$\vec{H}_{\text{loc}} = \vec{H}_0 + \vec{h}$$

et c'est pour une valeur donnée de ce champ local et non pour $\vec{H}_0$ que se produit la résonance.

Constante d'écran

La création du champ induit correspond à un effet diamagnétique : ce champ est proportionnel au champ extérieur $\vec{H}_0$, et de sens opposé :

$$\vec{h} = -\sigma \vec{H}_0$$

Le champ local devient donc :

$$\begin{aligned}\vec{H}_{\text{loc}} &= \vec{H}_0 - \sigma \vec{H}_0 \\ \vec{H}_{\text{loc}} &= (1 - \sigma) \vec{H}_0\end{aligned}$$

Ce champ est donc inférieur au champ extérieur $\vec{H}_0$, dont le passage à travers la molécule est en quelque sorte gêné par un écran dû aux mouvements de l'électron. D'où le nom de *constante d'écran* donné à la constante σ . Cette constante est très petite, de l'ordre de 10^{-6} .

La fréquence ν reçue au niveau du noyau est donc proportionnelle à $\vec{H}_{\text{loc}}$

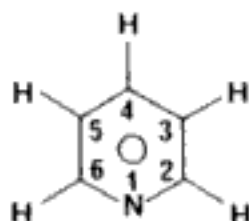
$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \vec{H}_{\text{loc}}$$

Si l'on considère que dans le cas théorique d'un noyau isolé la résonance aurait lieu pour une valeur du champ extérieur H_{A_0} , dans le cas réel pour obtenir le phénomène, il faut produire un champ H_{B_0} supérieur au premier et tel que

$$\vec{H}_{\text{loc}} = \vec{H}_{A_0} = \vec{H}_{B_0}(1 - \sigma)$$

Dans le spectre, il y a donc autant de raies de résonance qu'il y a de valeurs de la constante d'écran. Si dans une molécule plusieurs noyaux ont un environnement électronique identique, ils ont la même constante d'écran et donc résonnent pour une même valeur du champ H_0 . Ils sont dits *chimiquement équivalents ou isochrones*. Dans le cas contraire où σ est différent, ils sont *anisochrones*.

Si la molécule est symétrique, les noyaux équivalents sont interchangeables par des opérations de symétrie. A titre d'exemple, c'est le cas de tous les protons ou de tous les noyaux de carbone ^{13}C du benzène; c'est aussi celui des carbones 2 et 6 d'une part, 3 et 5 d'autre part, ou des protons qu'ils portent, dans la pyridine.



Il convient d'étendre cette notion d'équivalence à tout groupe de noyaux qui, *en moyenne* ont le même environnement chimique, bien qu'à un instant donné, cet environnement puisse être différent. C'est le cas lors de la libre rotation autour d'une simple liaison. Ainsi les trois protons d'un groupement méthyle sont isochrones.

Déplacement chimique

Pour rendre compte des différences de valeurs de fréquence de résonance, la mesure de la constante d'écran σ devrait suffire. Mais il faudrait alors prendre comme référence une valeur nulle de la constante, ce qui correspond à un noyau dépourvu de tout environnement électronique. Il est, en pratique, impossible d'étudier un tel noyau nu. Aussi est-on conduit à choisir une substance de référence, dont, de préférence, tous les noyaux sont isochrones, et à considérer la différence $\Delta\nu$ des fréquences de résonance (ou ce qui revient au même, la différence ΔH_0 des champs appliqués).

Si ν_x est la fréquence de résonance d'un certain type de noyaux isochrones X et ν_R la fréquence de résonance de la substance de référence.

$$\Delta\nu = \nu_x - \nu_R = \frac{\gamma}{2\pi} (H_x - H_R)$$

$$\Delta\nu = \frac{\gamma}{2\pi} [H_0(1 - \sigma_x) - H_0(1 - \sigma_R)]$$

$$\Delta\nu = \frac{\gamma}{2\pi} H_0(\sigma_R - \sigma_x)$$

Cette différence est de l'ordre de 1,5 kilohertz pour un champ H_0 donnant une fréquence de 60 mégahertz dans le cas de la résonance du proton. Elle dépend de la valeur du champ magnétique. Comme celle-ci peut varier selon les appareils, on est conduit à l'éliminer en faisant le rapport :

$$\delta = \frac{\Delta\nu}{\nu_0} = \sigma_R - \sigma_x$$

ν_0 est la fréquence théorique du noyau nu.

δ est appelé *déplacement chimique*.

Ce rapport, $\delta = \frac{\Delta\nu}{\nu_0} = \frac{\Delta H}{H_0}$, comme le montre l'exemple donné ci-dessus, est très petit, de l'ordre de quelques millionièmes. Aussi le déplacement chimique est-il exprimé en parties par million (p.p.m.).

● **Relation entre déplacement chimique et constante d'écran.** — Pour une même espèce de noyaux (proton, carbone 13, etc...) la fréquence de résonance est une constante et correspond à une même valeur du champ local. Il en résulte que plus la constante d'écran est petite et plus le champ H_0 extérieur, nécessaire pour atteindre cette fréquence de résonance, est faible puisque

$$H_{loc} = H_0(1 - \sigma)$$

Comme le déplacement chimique correspond à une différence, pour qu'il soit positif, il faut choisir une substance de référence dont les noyaux possèdent une constante d'écran σ_R très grande, et en tout état de cause, supérieure à la constante σ_x des autres noyaux étudiés. De toute façon, σ_R étant définie et

fixe pour un type de noyaux isochrones donné, le déplacement chimique δ est d'autant plus grand que la constante d'écran σ_x est plus petite et par conséquent que le champ H_0 est lui-même plus petit.

REMARQUE :

1) Si un type de noyaux résonne à un champ plus fort que le composé de référence le déplacement chimique devient négatif.

2) Une échelle, plus ancienne pratiquement plus utilisée, essaie d'éviter l'inconvénient de la variation en sens inverse de la constante d'écran et du déplacement chimique. C'est l'échelle des «tau» du nom de la lettre grecque qui symbolise les déplacements dans cette échelle.

$$\tau = 10 - \delta$$

L'inconvénient d'un tel système est que l'on a beaucoup plus fréquemment que pour les déplacements chimiques δ , des valeurs négatives. L'avantage est que τ varie dans le même sens que la constante d'écran.

● **Ordre de grandeur des déplacements chimiques.** — Ils varient selon la substance de référence utilisée mais surtout selon la nature du noyau étudié comme le montre le tableau XIX.

Tableau XIX.

Nature du noyau	Étendue de l'échelle des δ
^1H	30 ppm
^{13}C	400 ppm
^{19}F	1 000 ppm
^{31}P	800 ppm

● **Substances de référence.** — Pour qu'une substance puisse servir de référence, il faut que la constante d'écran des noyaux dont la résonance doit être étudiée soit très élevée, donc que l'environnement électronique soit assez dense. Il est en outre souhaitable qu'il y ait un nombre important de noyaux isochrones. Dans le cas du proton, ces deux conditions sont réalisées pour des dérivées possédant plusieurs groupements méthyle voisins. Le plus habituellement utilisé est le tétraméthylsilane $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, (T.M.S.) mais on peut employer aussi l'alcool tertibutylique, le cyclohexane ou même l'eau, selon le solvant utilisé qui doit dissoudre à la fois la molécule à étudier et le produit de référence. Pour la RMN du carbone ^{13}C , le TMS est également utilisable, mais aussi le sulfure de carbone. Dans le cas de la RMN du fluor, ce sont très souvent des dérivés trifluorés : acide trifluoroacétique, fluoroforme, trifluorotoluène. Pour l'azote ^{15}N et le phosphore ^{31}P , les références sont essentiellement des dérivés minéraux, ion nitrate ou acide phosphorique.

● **Solvants utilisés.** — Dans le cas des appareils classiques, il convient d'opérer en milieu liquide et donc de mettre en solution, les substances dont on veut étudier le spectre.

Dans le cas le plus important de la RMN du proton, il faut éviter un solvant hydrogéné dont les protons interféreraient par leur résonance propre. Quand un tel solvant est nécessaire, il est classique d'utiliser des dérivés ne contenant que du deutérium. Outre l'eau lourde, le solvant le plus habituel est le deutério-chloroforme, mais d'autres produits peuvent être nécessaires : deutériopyridine, deutérioD.M.S.O., etc...

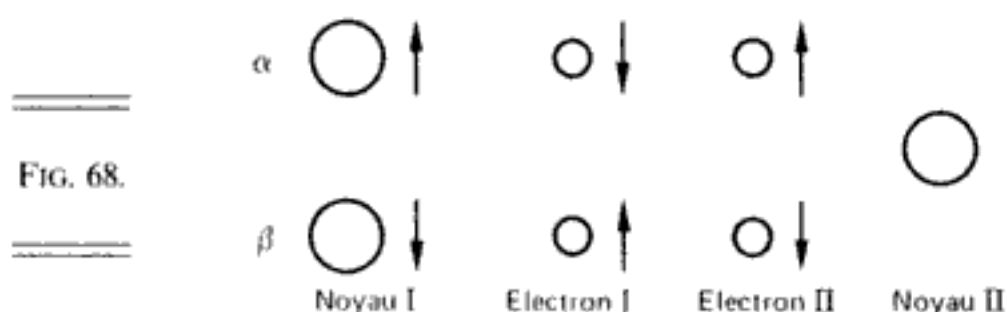
Couplage des spins

Si, avec des instruments de faibles performances, on observe, pour chaque type de noyaux équivalents, un seul pic de largeur plus ou moins grande, lorsque l'on améliore le pouvoir résolutif de l'appareil, on constate l'apparition d'une structure fine comportant plusieurs raies pour un même groupe isochrone. Ce phénomène est dû à l'interaction entre spins nucléaires, par l'intermédiaire des spins des électrons de valence, qui assurent la liaison chimique. En effet, outre le champ magnétique induit par les mouvements électroniques et dont les différentes valeurs sont à l'origine du déplacement chimique, il faut tenir compte de l'influence des vecteurs moment magnétique, correspondant au spin de chaque noyau. Ces vecteurs se comportent en effet comme de petits aimants et produisent donc un champ magnétique $\vec{H'}$ qui selon leur orientation vient s'ajouter ou se retrancher au champ local reçu par le noyau voisin. Le spin d'un électron peut ainsi influencer sur le champ reçu par le noyau; mais le plus intéressant est que le spin d'un noyau I peut intervenir sur le noyau II voisin. C'est le couplage des spins (ou spin-spin).

Considérons par exemple deux atomes I et II de spin $+1/2$, liés par une covalence. Le spin nucléaire du noyau I dans un champ magnétique H_0 ne peut prendre que deux valeurs égales et de sens opposés (α et β). Ce spin entraîne une certaine polarisation du spin des électrons qui gravitent autour du noyau, et en particulier de celui qui entre dans la liaison de covalence. En effet, le spin électronique a tendance à s'apparier avec le spin nucléaire, comme le font entre eux deux spins électroniques selon le principe d'exclusion de Pauli, c'est-à-dire en prenant une orientation antiparallèle. Naturellement, les deux électrons qui forment la liaison chimique entre I et II obéissent au même principe d'exclusion.

Le spin de l'électron II (appartenant à l'atome II) tend ainsi à prendre une orientation parallèle au spin nucléaire de I. Il en résulte que selon l'orientation de ce dernier spin nucléaire, le noyau II se trouve soumis en plus du champ local $\vec{H}_{loc}$, à un petit champ magnétique $\vec{H'}$ produit par l'électron II, lui-même influencé par le spin nucléaire de I. La valeur de ce champ est donc positive ou négative selon que le spin nucléaire I est α ou β (fig. 68).

Il y a donc couplage indirect des deux spins nucléaires, qui se traduit par



une résonance à deux valeurs légèrement différentes selon que $\overline{H'}$ est positif ou négatif. On observe donc deux bandes au lieu d'une : c'est un *douplet*.

Réciproquement, le noyau II réagit par son spin sur le noyau I d'une façon tout à fait analogue. L'on constate donc l'apparition d'un doublet pour la résonance de chacun des deux noyaux. L'intervalle J entre deux raies d'un doublet mesuré en hertz est nommé *constante de couplage*. Sa valeur traduit l'énergie du couplage. Contrairement au déplacement des fréquences, J est indépendante de la valeur du champ magnétique extérieur H_0 appliqué. Elle peut être positive ou négative selon les cas.

La figure 69 permet de résumer l'influence du couplage selon les quatre possibilités d'orientation des spins des noyaux I et II. Il est utile de rappeler que les transitions possibles mettent en jeu le changement d'orientation du spin de I ou de II, mais en aucun cas des deux spins simultanément. En effet la fréquence (ou le champ) de résonance est différente pour les deux noyaux, sinon ils seraient isochrones et ne donneraient pas de couplage.

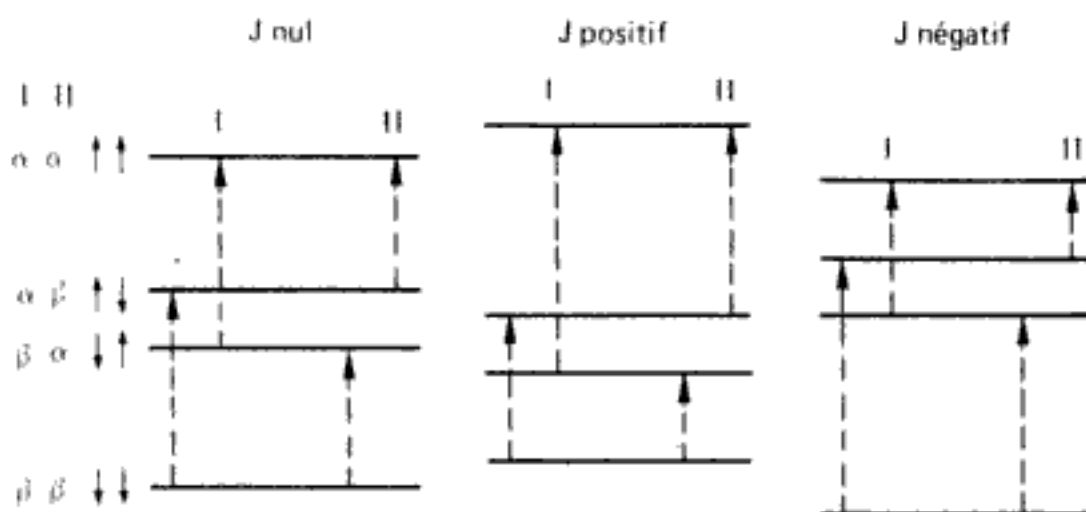


FIG. 69. — Influence du couplage sur les niveaux énergétiques dans le cas d'un spectre de 1^{er} ordre (système AX).

Ces transitions correspondent donc au passage du niveau énergétique 1 vers le niveau 2 ou du niveau 3 vers le niveau 4 pour la résonance magnétique du noyau II. Elles intéressent le passage de 1 vers 3 ou de 2 vers 4 pour la résonance du noyau I.

Il est aisé d'observer que dans le cas où le couplage est nul, les deux transitions possibles au niveau d'un noyau (I ou II) correspondent à la même

variation d'énergie, donc qu'il n'y a qu'une seule raie dans le spectre (singulet). Au contraire, si J est positif, les états de spins appariés sont stabilisés, donc de plus faible énergie, les états de spins parallèles étant au contraire d'énergie plus élevée. Par rapport au cas d'une absence de couplage, ces deux derniers niveaux sont élevés de $\frac{J}{4}$, les deux niveaux correspondant au spin appariés sont abaissés de la même valeur.

Dans le cas où J est négatif, ce sont les niveaux de spins parallèles qui sont stabilisés et les niveaux de spins appariés qui possèdent une énergie plus grande. Mais que J soit positif ou négatif, le résultat des transitions est le même et l'on observe un doublet pour chaque noyau I et II, sans qu'il soit possible de déterminer le signe du couplage. La probabilité des deux transitions étant la même, les deux raies ont une même intensité et donc une hauteur égale; le déplacement chimique est mesuré au centre du doublet. La valeur de la constante de couplage est très variable; ainsi, pour la résonance du proton, elle peut prendre des valeurs de 0 à 20 Hz. Elle augmente avec le numéro atomique des éléments couplés.

Le couplage peut non seulement se produire entre deux noyaux voisins, par exemple un proton et un atome de carbone, mais également entre deux noyaux plus éloignés, comme par exemple deux protons liés à deux atomes de carbone voisins (protons vicinaux). La constante de couplage est en principe positive, lorsque les atomes couplés sont séparés par un nombre impair de liaisons et négative dans le cas contraire.

Lorsque l'on veut indiquer le nombre de liaisons qui séparent les noyaux couplés, on fait précéder J de ce nombre placé en exposant : nJ .

Ainsi un couplage proton-carbone est 1J ; un couplage entre deux protons géminés 2J , entre deux protons vicinaux 3J .

En général, les valeurs de J diminuent en valeur absolue avec le nombre n de liaisons séparant les noyaux et le couplage est nul, même dans le cas le plus favorable du proton, à partir de quatre liaisons sauf si une ou plusieurs de ces liaisons comportent des électrons π .

Le déplacement chimique est mesuré au centre du doublet.

• **Classification des couplages.** — Selon le rapport entre la constante de couplage J et la différence des fréquences de résonance des deux noyaux couplés : $\Delta\nu$, on distingue deux grands types. Le premier est tel que $\Delta\nu$ est beaucoup plus grande que J , donc que

$$\frac{J}{\Delta\nu} < \frac{1}{10}$$

C'est le cas qui a été envisagé précédemment. Il est nommé *couplage de premier ordre*. Les deux noyaux sont classiquement désignés par des lettres éloignées dans l'alphabet et ce couplage est dit AX (fig. 70(a)).

Il existe un deuxième cas, où le couplage est dit de *second ordre*, lorsque $\frac{J}{\Delta\nu}$ est voisin de 1. Les deux noyaux couplés sont alors désignés par des lettres

voisines de l'alphabet et l'on a un système AB. Dans ce cas, il y a interaction entre les deux doublets qui sont associés en une figure à quatre raies ou quadruplet. La probabilité des deux transitions possibles correspondant à chaque atome n'est plus la même : les deux raies de chaque doublet n'ont donc plus la même intensité; les raies extérieures sont plus petites que les raies intérieures (fig. 70(b)). A la limite, si les deux noyaux tendent à devenir équivalents, J tend vers 0, les deux raies intérieures tendent à se confondre, les deux extérieures à disparaître et le signal se réduit à un singulet.

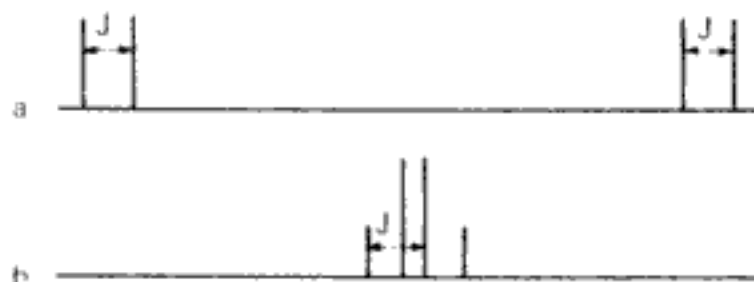


FIG. 70. — Différents types de couplage entre deux noyaux.

a) Couplage de premier ordre (AX).

b) Couplage de deuxième ordre (AB)

● **Couplage de plusieurs noyaux.** — Fréquemment, ce ne sont pas deux, mais plusieurs noyaux qui sont couplés, c'est ainsi par exemple que dans la résonance magnétique du proton, les trois noyaux d'hydrogène d'un groupement méthyle interviennent sur le ou les protons portés par un carbone voisin (couplage 3J) on observe ainsi des couplages A_nX_m ou A_nB_m , où m et n représentent le nombre de noyaux couplés les uns avec les autres. Il est également possible d'observer des couplages entre trois noyaux, par exemple dans le cas d'un cyclopropyle, on obtient des couplage AMX, s'ils sont de premier ordre, ABC s'ils sont de deuxième ordre.

Les couplages de second ordre sont difficiles à interpréter et il est pratiquement impossible dans ce cas de déterminer avec une précision acceptable, le déplacement chimique ou la constante de couplage. Ce sont donc les couplages de premier ordre qui permettent l'étude la plus intéressante et qui sont essentiellement envisagés maintenant. A titre d'exemple, dans le cas de la RMN du proton d'une molécule comme l'acétaldéhyde, on constate que l'unique proton aldéhydique peut être couplé avec les trois protons isochrones du groupement méthyle. Or ces trois protons peuvent exister sous huit états correspondant aux différentes possibilités d'orientation des spins. Ces huit états sont répartis en quatre niveaux d'énergie :

4	$\alpha\alpha\alpha$		
3	$\alpha\alpha\beta$	$\alpha\beta\alpha$	$\beta\alpha\alpha$
2	$\alpha\beta\beta$	$\beta\alpha\beta$	$\beta\beta\alpha$
1	$\beta\beta\beta$		

Les niveaux 2 et 3 sont trois fois plus peuplés que les niveaux 1 et 4. Il en résulte que la résonance du proton aldéhydique se traduit par un quadruplet dont les raies équidistantes et ont les intensités relatives 1, 3, 3, 1.

Pour déterminer le déplacement chimique on envisage le centre du multiplet (dans un système de premier ordre).

Il est important de remarquer (fig. 71) que c'est l'unique proton aldéhydique qui se présente sous forme d'un quadruplet à $\delta = 9,80$ ppm, alors que les trois protons isochrones du groupement méthyle, qui ne sont couplés qu'avec un seul proton aldéhydique, correspondent à un doublet à $\delta = 2,20$ ppm.

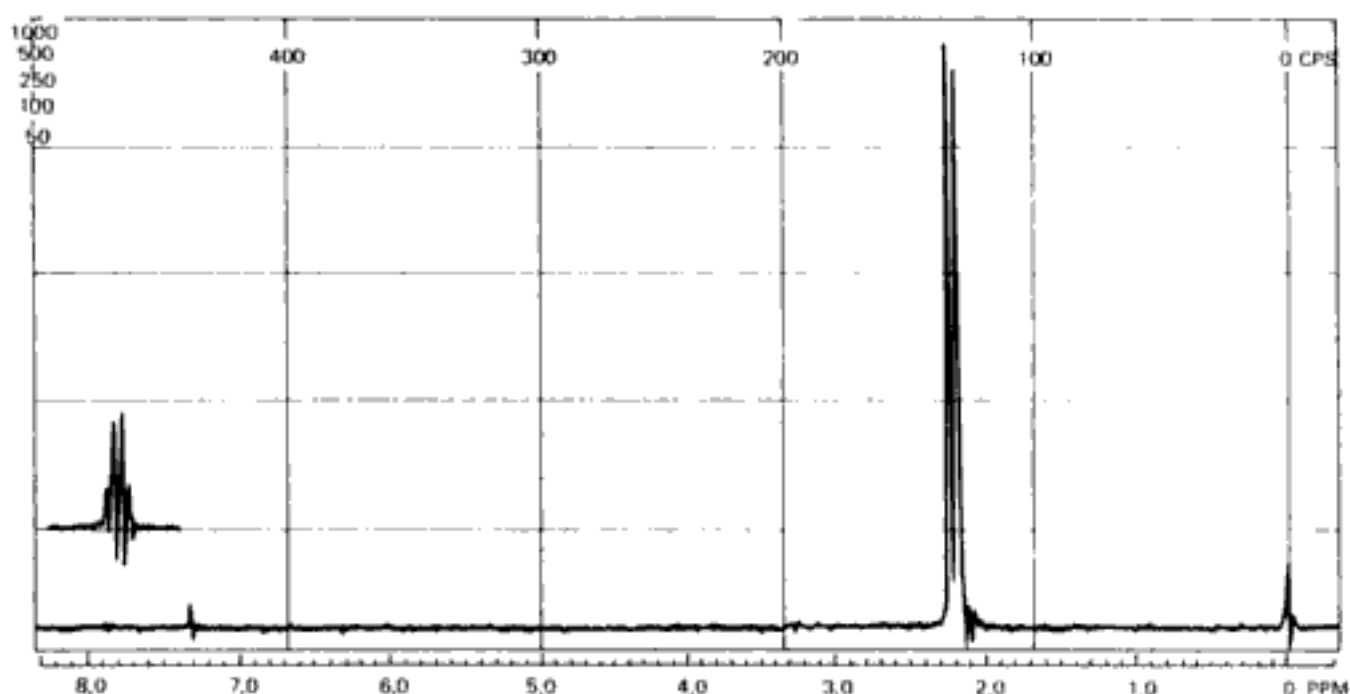


FIG. 71. — Spectre de RMN du proton de l'acétaldéhyde.

De même, dans l'éthanol, (fig. 72) les deux protons méthyléniques correspondent à un quadruplet à $\delta = 3,70$ ppm, alors que les trois protons méthyliques résonnent suivant un triplet à $\delta = 1,22$ ppm. Le proton de l'hydroxyle étant lié à un oxygène et non à un carbone n'est généralement pas couplé et se traduit par un singulet à $\delta = 2,58$ ppm.

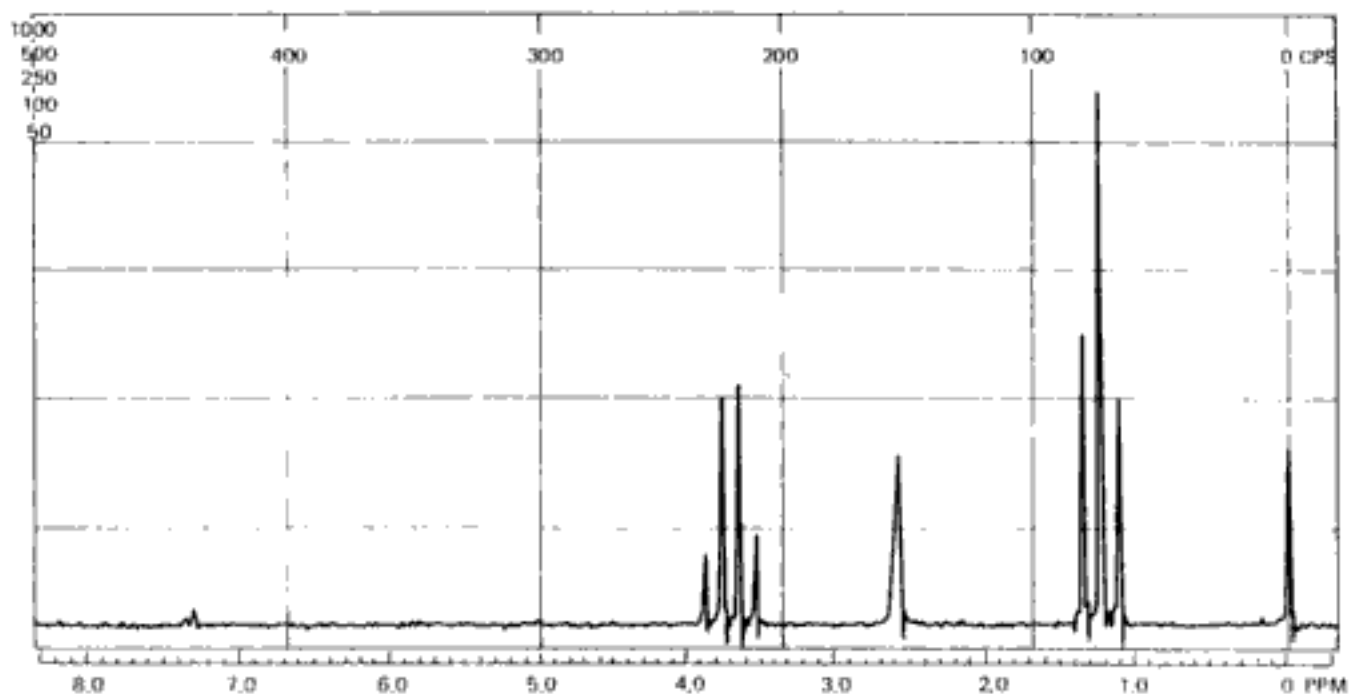


FIG. 72. — Spectre de RMN du proton de l'éthanol.

En généralisant, si un noyau atomique est couplé avec n noyaux, la multiplicité est de $(n + 1)$ raies.

L'intensité relative de ces raies, correspondant aux coefficients numériques du développement du binôme élevé à la puissance n .

Ainsi pour un proton soumis au couplage de deux restes méthyle tel que le proton central d'un groupement isopropyle, on obtient un septuplet puisque ce proton est couplé avec six autres. Les intensités relatives sont 1. 6 15. 20. 15. 6. 1.

● **Découplage de spins.** — Si le couplage des spins permet d'obtenir des renseignements intéressants dans l'étude des spectres de premier ordre, il peut s'avérer gênant dans un certain nombre de cas. C'est ainsi que l'on ne peut pas déterminer le déplacement chimique avec une précision acceptable dans le cas des spectres de second ordre, mais aussi et surtout que dans le cas où les couplages sont nombreux, le spectre, très touffu en raison du nombre de raies, est difficilement interprétable. C'est ce qui se produit, notamment, pour les spectres de RMN du carbone 13 où tous les protons liés aux carbones, interviennent dans les couplages.

Il est alors intéressant de découpler les spins. Pour ce faire, si l'on étudie la résonance magnétique d'un type de noyaux I, par exemple le carbone 13, on applique un second champ $\vec{H}_2$ de radiofréquence telle qu'elle correspond à la fréquence de résonance magnétique de noyaux II, par exemple les protons, dont le spin devrait se coupler avec celui du noyau I. Ce champ $\vec{H}_2$ est émis de telle sorte que le noyau II soit contraint d'orienter son spin le long d'un axe perpendiculaire à la direction de l'aimantation des noyaux I. Ces derniers deviennent ainsi insensibles à l'orientation du spin de ce noyau II puisque leurs deux directions sont orthogonales. Chaque groupe de noyaux isochrones résonne alors pour une seule valeur du champ et sous la forme d'un singulet. Dans le cas de la RMN du carbone 13, il est également possible de réaliser un découplage partiel* qui ne laisse subsister que les couplages $^1J_{C-H}$ en modifiant légèrement la valeur du champ $\vec{H}_2$ en intensité et en fréquence. Cette méthode est précieuse, car la multiplicité due aux couplages directs subsiste, même si les valeurs apparentes de J ne sont pas exploitables. Les carbones apparaissent alors sous forme de quadruplets pour le méthyle CH_3 , de triplets pour le méthylène CH_2 , de doublets pour le groupement CH et de singulets pour les carbones qui ne portent aucun hydrogène.

Techniques instrumentales utilisées

Deux difficultés apparaissent dans ce domaine. La première est inhérente au faible nombre de noyaux qui intervient dans la résonance magnétique, la seconde provient de la faible valeur des temps de relaxation notamment en milieu solide (v. p. 162-163).

* En anglais : off resonance.

● **Résonance magnétique nucléaire à ondes continues.** — Les premiers appareils ont été conçus pour la RMN du proton. La radiation électromagnétique, dont le champ H_1 ne doit pas être trop intense, est envoyée sur l'échantillon d'une manière continue. La compensation entre phénomènes de saturation et de relaxation est alors acceptable et il est possible de tracer des spectres, uniquement à partir de liquides, puisque les gaz ne sont pas dans un état assez condensé pour permettre la présence d'un nombre suffisant de noyaux et que les solides conduisent à un écrasement total du pic.

Ces appareils sont dits à ondes continues.

● **Résonance magnétique nucléaire à impulsions.** — Toutefois, le nombre de noyaux déjà faible dans le cas du proton, où l'isotope ^1H correspond à la quasi totalité des atomes d'hydrogène étudiés, devient insuffisant dans le cas du carbone 13 par exemple ou la proportion de l'isotope intéressant dans le carbone naturel n'est que de 1,1 %.

Pour obtenir l'enregistrement d'un spectre d'intensité suffisante il est nécessaire de faire la somme d'un grand nombre d'enregistrements.

Pour ce faire, on utilise des systèmes fondés sur l'envoi dans l'échantillon d'une succession d'impulsions magnétiques brèves mais intenses, séparées par un temps de l'ordre de grandeur des temps de relaxation. L'enregistrement concerne alors les courbes de relaxation. Comme cela a été indiqué p. 12, il est possible mathématiquement grâce aux transformées de Fourier, d'obtenir à partir de ces courbes, en fonction du temps, des spectres (correspondant à une variation en fonction de la fréquence). La somme de nombreuses déterminations, permet l'obtention d'un spectre satisfaisant.

Cette technique a également permis d'accéder à des mesures sur des échantillons solides, ou même sur des mélanges de solides et de liquides de viscosité différentes, comme cela est le cas en bromatologie et, dans un domaine non analytique, en imagerie médicale.

La courbe de relaxation présente en effet dans ce cas différentes zones, correspondant aux divers temps de relaxation et une analyse informatique permet de déterminer les teneurs en ces différents constituants.

● **Résonance magnétique nucléaire à basse résolution.** — En analyse alimentaire, le but recherché est de doser, soit un liquide (eau, huile) dans un solide, soit plusieurs ensembles séparables en fonction de leur temps de relaxation.

C'est donc la totalité des protons correspondant, qui est intéressante sans qu'il soit nécessaire de différencier, par exemple, ceux du glycérol et ceux des acides gras.

La détermination de spectres à haute résolution permettant d'observer des variations de déplacement chimique, n'est donc pas nécessaire.

Aussi existe-t-il sur le marché de nombreux appareils dits à basse résolution qui permettent d'obtenir le résultat désiré. Ils peuvent être à ondes continues

et conduire par exemple à la détermination de la teneur en eau dans une graisse, ou à celle de la proportion d'huile liquide et de graisse solide dans une matière grasse.

Les appareils les plus récents sont à impulsions et permettent un contrôle non destructif simultané de plusieurs paramètres (lipides, protéines, eau).

Applications pratiques des spectres de RMN

Elles portent sur l'analyse structurale d'une molécule organique, mais également sur l'analyse quantitative.

● **Analyse structurale.** — Elle porte tout d'abord sur la mesure des déplacements chimiques mais également sur la détermination des constantes de couplage.

Mesure des déplacements chimiques. — Les déplacements chimiques dépendent de l'environnement électronique du noyau. Plus celui-ci est dense, plus la constante d'écran est élevée, et donc, plus le déplacement chimique est faible.

C'est ainsi que tant pour la résonance magnétique du proton que pour celle du carbone 13, les noyaux appartenant à des groupements aliphatiques présentent un déplacement faible. Par contre, pour les noyaux de carbone qui forment des liaisons multiples, ou pour les protons qui sont portés par ces carbones, le déplacement est nettement plus élevé.

L'influence de substituants en position α , β ou γ est également importante. Un certain nombre de données concernant les déplacements chimiques sont rassemblées dans les tableaux XX (résonance du proton) et XXI (carbone 13).

Comme dans le cas de spectres infrarouges, il est possible d'établir des corrélations semi-empiriques en fonction d'effets inducteurs ou mésomères et de l'existence de liaisons hydrogène. De plus, il faut tenir compte des phénomènes d'anisotropie magnétique.

EFFETS INDUCTEURS. — Un substituant attracteur (effet $-I$) situé au voisinage du noyau concerné, diminue la densité électronique et donc la constante d'écran σ . Le déplacement chimique augmente donc. Inversement un substituant donneur augmente cette densité électronique et provoque donc l'abaissement de la valeur du déplacement chimique. Par exemple, dans le cas simple de groupements méthyle, si par définition les protons du tétraméthyl silane ont un déplacement nul, les trois noyaux hydrogène liés au carbone dans l'alcool méthylique présentent un déplacement chimique $\delta = 3,47$ ppm, en raison de l'effet attracteur de l'oxygène. Les effets inducteurs se transmettent le long d'une chaîne, mais leur intensité décroît rapidement avec le nombre de liaisons. Ainsi, le déplacement chimique des trois protons du groupement méthylique qui est $\delta = 3,47$ ppm pour le méthanol, n'est plus que de $\delta = 1,22$ ppm dans l'éthanol et de $\delta = 0,98$ ppm dans le n propanol.

Tableau XX. — QUELQUES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES EN RMN DU PROTON.

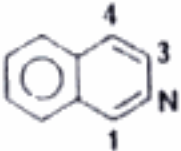
Groupement concerné	δ
1) Protons portés par un carbone aliphatique	
$\text{CH}_3 - \text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$	0,80-1,20
$\begin{smallmatrix} \\ \text{C} - \text{CH}_2 \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix} \text{C}$	1,20-1,40
$-\text{CH}_2-$ cyclique	1,30-1,60
$\text{CH}_3 - \text{C} \begin{smallmatrix} \\ \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix} = \text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$	1,60-2
$\text{CH}_3 - \text{Ar}$	2,10-2,50
$\text{CH}_3 - \text{C} \begin{smallmatrix} \\ \text{O} \end{smallmatrix}$	1,80-2,60
$\text{CH}_3 - \text{N} \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$	2,20-3,30
$\text{CH}_3 - \text{O} -$	3,30-4
$\begin{smallmatrix} \diagup \\ \text{C} \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} \diagdown \\ \diagup \end{smallmatrix} \text{CH}_2 - \text{O}$	3,60-4,40
$\begin{smallmatrix} \text{CH} \\ \text{O} \end{smallmatrix}$	3,80-5,20
2) Protons portés par un carbone entrant dans une liaison multiple	
$\text{C} \equiv \text{C} - \text{H}$	2,40-3,10
$\begin{smallmatrix} \diagup \\ \text{C} = \text{CH}_2 \end{smallmatrix}$	4,50-6
$-\text{CH} = \text{CH}$	4,50-7,30
$\text{Ar} - \text{H}$	6,50-8
isoquinoléine 	1) 9-9,50; 3) 8-8,50; 4) 7-7,50
$\begin{smallmatrix} \text{C} & \text{H} \\ & \\ \text{O} & \end{smallmatrix}$	9,50-10
3) Protons portés par un hétéroatome	
$\text{R} - \text{OH}$	0-6
$\text{R} - \text{NH}$	0,5-4
$\text{Ar} - \text{OH}$	9-12
$\begin{smallmatrix} \text{C} & \text{OH} \\ & \\ \text{O} & \end{smallmatrix}$	9-12

Tableau XXI. — QUELQUES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES EN RMN DU CARBONE 13 (référence T.M.S.).

Nature des liaisons	δ
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{C} - \\ \end{array}$ (carbone primaire)	5-30
$\begin{array}{c} -\text{CH}_2 - \text{C} - \\ \end{array}$ (carbone secondaire)	20-45
$\begin{array}{c} \text{CH} - \text{C} - \\ \end{array}$ (carbone tertiaire)	30-60
$\begin{array}{c} \text{C} - \text{C} - \\ \end{array}$ (carbone quaternaire)	30-50
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{O} - \\ \\ \text{CH}_2 - \text{O} - \end{array}$	50-60
$\begin{array}{c} \text{CH} - \text{O} - \\ \end{array}$	40-70
$\begin{array}{c} \text{C} - \text{O} - \\ \end{array}$	65-80
$\begin{array}{c} \text{C} \equiv \text{C} - \\ \end{array}$	75-85
$\begin{array}{c} \text{C} \equiv \text{N} \\ \end{array}$	75-95
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{C} - \\ \end{array}$ aromatique	115-125
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{C} - \\ \end{array}$ hétéroaromatique	110-135
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{N} - \\ \end{array}$ éthylénique	115-140
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$ hétéroaromatique	105-145
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$ ester, amide	145-155
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$ acide	160-175
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$ aldéhyde	170-185
$\begin{array}{c} \text{C} = \text{O} \\ \end{array}$ cétone	185-205
	205-225

Dans le cas des protons, ces effets inducteurs sont dans une certaine mesure additifs; c'est le cas dans un enchaînement $\text{X}-\text{CH}_2-\text{Y}$, où le déplacement chimique des protons méthyléniques peut être calculé à l'aide d'incrément caractéristiques des substituants X et Y en partant du déplacement chimique des protons du méthane $\delta_{\text{CH}_4} = 0,23$ ppm

$$\delta_{\text{X}-\text{CH}_2-\text{Y}} = \delta_{\text{CH}_4} + \sigma_{\text{X}} + \sigma_{\text{Y}}$$

Ces instruments σ_{X} et σ_{Y} ont des valeurs différentes selon la nature des substituants. Le tableau XXII donne quelques valeurs approchées de ces incréments.

Tableau XXII.

Substituant	σ ppm
Cl —	2,55
C ₆ H ₅ —	1,85
R — C — O	1,70
N ≡ C —	1,70
CH ₃ —	0,45

EFFETS MÉSOMÈRES. — Un effet mésomère fait varier la densité électronique dans le même sens que l'effet inducteur : s'il est donneur, il augmente la densité électronique, et donc diminue la valeur du déplacement chimique. C'est ainsi que dans le cas du cycle benzénique les substituants donneurs tels que les groupements éther-oxyde ou amine déplacent la résonance des protons situés en *ortho* et *para* vers les champs forts, c'est-à-dire les déplacements chimiques faibles.

Au contraire, un substituant accepteur, tel que le groupement ester ou le groupement nitré, déplace la résonance des protons, qu'ils soient en *ortho*, *méta* ou *para* vers les champs faibles donc les grands déplacements chimiques.

Ici encore, dans une certaine mesure, les effets mésomères sont additifs et l'on peut calculer empiriquement le déplacement chimique d'un proton aromatique donné à partir du déplacement chimique des protons du benzène $\delta_{\text{C}_6\text{H}_6} = 7,27$ ppm.

$$\delta = \delta_{\text{C}_6\text{H}_6} + \sum S_i$$

La valeur des incréments S_i dépend non seulement de la nature des substituants mais aussi de leur position comme le montre le tableau XXIII :

Tableau XXIII.

Substituant	S_{ortho}	$S_{\text{méta}}$	S_{para}
—NH ₂	— 0,75	— 0,25	— 0,65
—OCH ₃	— 0,48	— 0,09	— 0,44
—OCOCH ₃	— 0,25	+ 0,03	— 0,13
—CH ₃	— 0,20	— 0,12	— 0,22
—Cl	+ 0,03	— 0,02	— 0,09
—COOCH ₃	+ 0,71	+ 0,11	+ 0,21
—NO ₂	+ 0,95	+ 0,26	+ 0,38

LIAISONS HYDROGÈNE. — La création de liaisons hydrogène provoque un déplacement vers les champs faibles, c'est-à-dire une élévation du déplacement chimique. Il y a en effet diminution de la densité électronique au niveau du proton concerné. Contrairement aux spectres infrarouges, où l'on peut

distinguer deux bandes correspondant à l'existence ou à l'absence de liaisons hydrogène, dans la RMN on observe un signal unique qui correspond à la moyenne pondérée des déplacements chimiques individuels.

Cette variation du déplacement chimique peut être considérable puisque, pour un proton alcoolique ou aminé subissant une liaison hydrogène, il est de 12 à 16 ppm.

ANISOTROPIE MAGNÉTIQUE. — Certaines valeurs des déplacements chimiques ne sont pas expliquées d'une façon satisfaisante par les effets inducteurs ou mésomères.

C'est ainsi que dans les carbures acétyléniques, les déplacements chimiques concernant tant les carbones que les protons, devraient se situer, en raisonnant en fonction des densités électroniques à des valeurs supérieures à celles observées pour les carbures éthyléniques. Or la simple lecture des tableaux XX et XXI montre qu'il en est rien.

Le déplacement chimique d'un proton acétylénique se situe vers 2,40 à 3,10 ppm, soit à une valeur correspondant également encore aux protons portés par des carbures saturés, alors que les protons éthyléniques ont un déplacement beaucoup plus grand de 4,50 à 7,30 ppm selon leur environnement.

De même, pour la RMN du carbone 13, le déplacement chimique d'un carbone éthylénique (par rapport au T.M.S.) est de 106 à 145 ppm alors, que celui d'un carbone triplement lié n'est que de 75 à 95 ppm.

Au contraire, dans le cas du benzène, la résonance des protons à lieu à $\delta = 7,27$ ppm, donc pour un champ nettement plus faible que celui qui est observé pour l'éthylène ($\delta = 5,35$ ppm) alors que dans les deux cas le carbone porteur est hybridé sp^2 .

Ces diverses anomalies sont dues au fait que le champ induit $\vec{\sigma H_0}$ et donc la constante d'écran σ n'ont pas la même valeur dans toutes les directions considérées : c'est le phénomène d'anisotropie diamagnétique qui est particulièrement net dans le cas de molécules possédant des électrons π .

Pour expliquer ce phénomène, on peut par exemple, prendre le cas du benzène. Le cycle benzénique est situé dans un plan correspondant aux liaisons σ . De part et d'autre de ce plan, deux volumes en forme de tore correspondent aux orbitales π .

Les molécules de benzène, du fait de l'agitation thermique, subissent des mouvements incessants. Lorsqu'elles sont soumises à un champ magnétique H_0 , un certain nombre d'entre elles se trouvent orientées perpendiculairement à ce champ.

Dans ce cas, et sous l'influence du champ magnétique, les électrons π se déplacent à l'intérieur des volumes toriques, créant ainsi un courant électrique. Ce dernier induit donc un champ magnétique secondaire $\vec{H'}$ qui s'oppose au champ initial H_0 dans les régions situées au-dessus et au-dessous du plan du cycle : c'est un effet diamagnétique. Mais, comme le montre la figure 73(b), dans les régions situées dans le plan du cycle et à l'extérieur, le champ H' se trouve, du fait de la forme des lignes de force, dans le même sens que le champ

extérieur $\vec{H}_0$: c'est un effet paramagnétique. Les protons liés aux carbones aromatiques qui sont dans cette zone, sont donc soumis à un champ local $\vec{H}_0 + \vec{H}'$. Leur résonance apparaît donc pour une valeur du champ $\vec{H}_0$ inférieure à celle que l'on aurait observé en l'absence du champ induit. Il y a donc ainsi diminution de la constante d'écran apparente (et donc augmentation du déplacement chimique). On dit qu'il y a « déblindage ».

Au contraire, dans le cas de l'acétylène (fig. 73(a)) l'orbitale correspondant aux électrons π dans le cas de l'hybridation sp , se présente sous la forme d'un cylindre coaxial à la molécule.

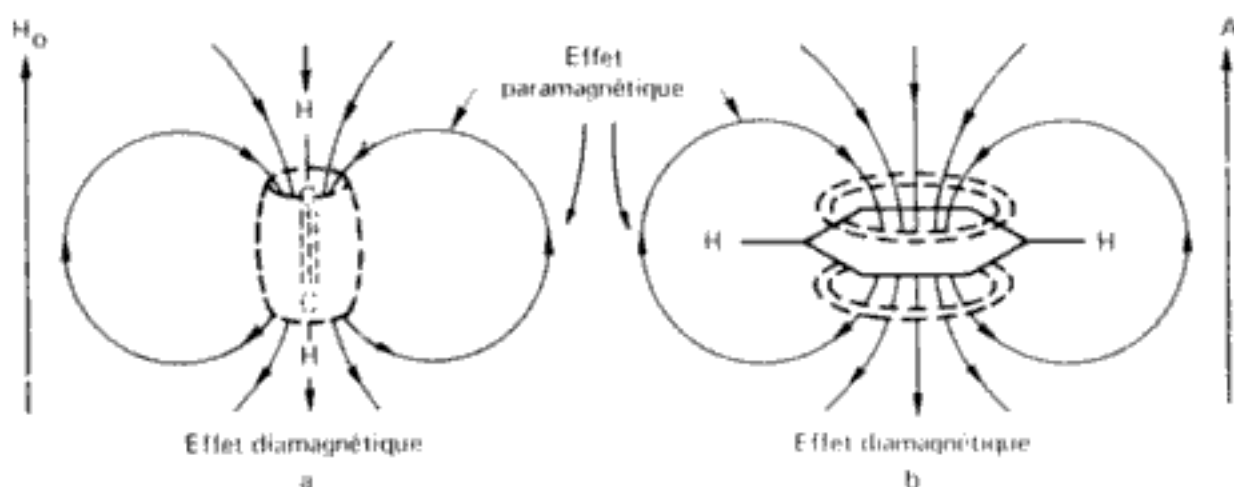


FIG. 73. – Anisotropie magnétique.

a) Cas de l'acétylène; b) cas du benzène.

Les protons et les noyaux de carbone se trouvent donc dans une zone où l'effet diamagnétique est très important. Il y a donc augmentation de la constante d'écran et diminution du déplacement chimique : c'est le « blindage » (aveuglement).

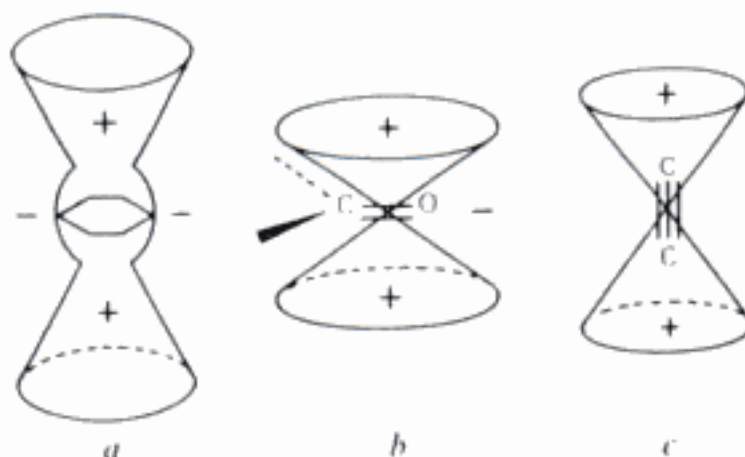
Mais le raisonnement fait jusqu'ici ne concerne que les molécules convenablement situées par rapport au champ et bien évidemment toutes les molécules de benzène ne sont pas toutes perpendiculaires à H_0 , ni les molécules d'acétylène toutes parallèles. Les molécules qui sont en position orthogonales par rapport à celles qui ont été envisagées ci-dessus ne subissent aucune action du champ magnétique. Si elles sont obliques, seule la composante de $\vec{H}_0$ selon la direction convenable est efficace. Mais il n'en demeure pas moins que la somme de toutes ces influences n'est pas nulle en raison des rotations rapides des molécules au sein du liquide et qu'il y a donc bien anisotropie magnétique.

Pour représenter cet effet, on utilise la notion graphique de cône d'anisotropie.

On peut tracer soit des cônes de blindage soit des cônes de déblindage. Quelques exemples sont donnés dans la figure 74. Le signe + indique la zone de blindage (donc de déplacement chimique abaissé). Le signe – la zone de déblindage.

FIG. 74. — Cônes de blindage.

- a) Dans le cas du benzène.
 b) Dans le cas d'un carbo-
 nyle.
 c) Dans le cas de l'acétylène.

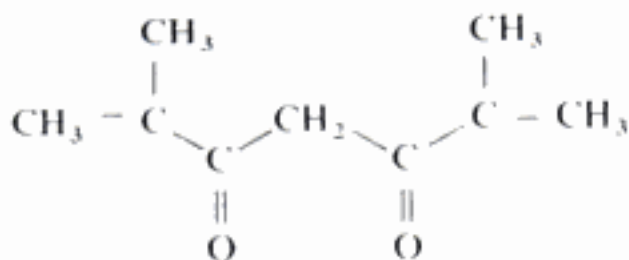


Tous les électrons π sont susceptibles de donner une telle anisotropie : aussi bien ceux issus de carbures éthyléniques ou acétyléniques que ceux qui proviennent de liaisons entre un carbone et un hétéroatome : carbonyles, imines, etc...

Ceci permet d'expliquer par exemple le déplacement chimique très élevé correspondant au proton aldéhydique, qui se trouve dans une zone de déblindage, où l'on observe un effet paramagnétique. Le proton résonne donc pour une valeur du champ très faible.

EMPLOI DE COMPLEXES DE TERRES RARES : RÉACTIFS DE DÉPLACEMENT CHIMIQUE.

— De grands déplacements chimiques sont constatés dans le cas d'espèces paramagnétiques du fait du moment magnétique très important des électrons célibataires. Aussi de nombreux essais ont été tentés pour utiliser les ions de métaux de transition et leurs complexes, afin d'induire une variation du déplacement chimique dans d'autres molécules. La plupart de ces essais se sont soldés par des échecs en raison d'un élargissement trop important du spectre, dû à la rapide relaxation spin-réseau provoquée par des espèces paramagnétiques. Seuls les dérivés de terres rares, comme par exemple les ions trivalents de l'euprimum et du praséodyme, sont pratiquement inactifs sur cette relaxation, en dépit de leur paramagnétisme. Ces ions sont utilisés à l'état de complexes avec des dicétones comme le dipivalylméthane ou DPM :



Elles réalisent des liaisons datives pour former des chélates $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ ou $\text{Pr}(\text{DPM})_3$ (fig. 75).

Dans de tels complexes, l'ion du lanthanide peut accroître sa coordinance en acceptant un doublet électronique libre. Une réaction de ce type peut donc se produire entre le chélate et un groupement fonctionnel qui contient une telle paire d'électrons. Dans le spectre de RMN du nouveau complexe formé,

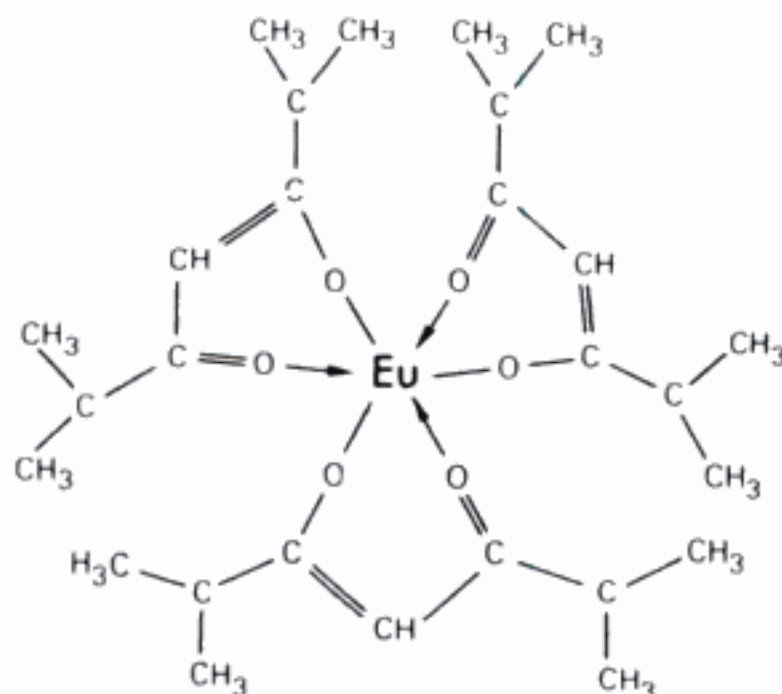


FIG. 75.

on observe une variation importante du déplacement chimique pour les noyaux voisins du groupement fonctionnel. Le déplacement provoqué est d'autant plus considérable que les noyaux sont plus proches du groupement fonctionnel donneur d'électrons. La modification ainsi réalisée permet souvent de séparer des bandes spectrales qui, normalement, seraient superposées. Par exemple, les différents groupements méthyléniques d'un alcool aliphatique à longue chaîne se trouvent résonner pour des valeurs très différentes du champ magnétique et sont ainsi parfaitement identifiables (fig. 76).

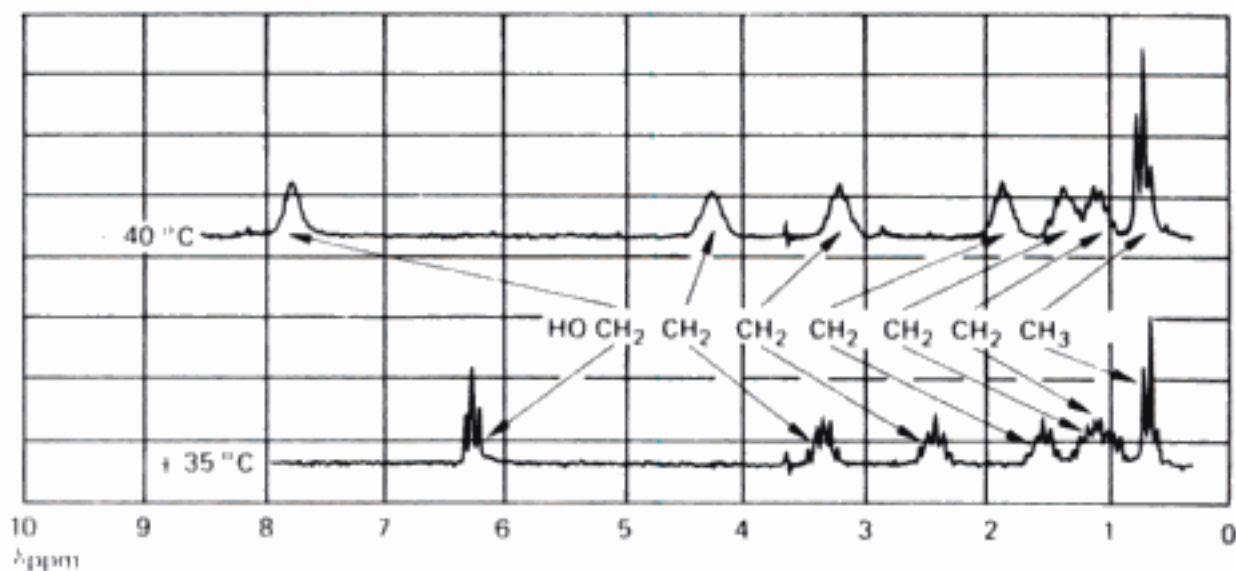


FIG. 76. -- Spectre du *n*-heptanol en présence de 0,3 moles de $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ par mole d'alcool à $+35^\circ\text{C}$ et -40°C (solvant CDCl_3).

Le principal mécanisme de cette modification du déplacement chimique est dû à l'existence d'un champ magnétique secondaire engendré par le moment magnétique de l'ion paramagnétique.

Il est possible de déterminer mathématiquement la valeur de la variation de δ en fonction de la distance qui sépare l'ion lanthanide et le noyau considéré.

On obtient ainsi d'utiles renseignements sur la structure et la conformation des molécules.

D'un point de vue pratique, la variation de déplacement chimique est proportionnelle à la quantité de réactif ajouté à la solution jusqu'à ce que l'on obtienne un rapport molaire d'environ 0,5 entre le réactif et le substrat.

En effet, comme cela a été indiqué précédemment à propos de l'influence de la liaison hydrogène, le déplacement chimique observé correspond à la moyenne pondérée entre celui des molécules libres et celui des molécules coordonnées au réactif. Il est important de noter que la variation de déplacement est d'autant plus grande que la température est plus basse. Mais l'abaissement de la température entraîne un élargissement des raies (fig. 77).

Il faut remarquer que l'utilisation de ces réactifs est limitée par deux facteurs :

- l'encombrement stérique considérable du réactif qui peut entraîner des difficultés lors de la formation de complexes avec des molécules elles-mêmes très volumineuses;
- l'impossibilité de faire réagir des acides ou même des phénols qui détruiraient le complexe puisque le DPM ou les produits voisins utilisés se comportent comme des acides très faibles.

Étude des couplages. — Dans les spectres de résonance magnétique du proton, l'observation de la multiplicité des signaux est également importante. Un certain nombre de groupements sont ainsi aisément reconnaissables : les groupements méthyle portés par un azote, un oxygène ou un carbone quaternaire donnent des pics uniques (singulets) tandis que s'ils sont liés à un carbone tertiaire, ils se présentent sous forme d'un doublet. Les groupements éthyle sont également aisément reconnaissables sous forme d'un quadruplet et d'un triplet associés.

De même la substitution du noyau aromatique est reconnaissable surtout lorsqu'elle correspond à une disubstitution en *para*. Il y a en effet dans ce cas deux paires de protons couplés selon un système AB. On observe alors un signal ressemblant à un quadruplet symétrique. La distance entre les deux raies médianes est fonction des substituants.

La mesure de la constante de couplage est également importante. Ainsi dans le cas des méthyles couplés à un carbone tertiaire ou secondaire, elle a une valeur $J = 6$ à 7 Hz.

Mais surtout, c'est au niveau de l'analyse conformationnelle que la mesure de J est importante. Il existe en effet une relation approximative entre l'angle dièdre Φ formé par les deux protons situés sur des atomes de carbones voisins et la constante de couplage J . Elle est du type

$$J = K \cos^2 \Phi + C$$

et correspond à la courbe de la figure 77 (courbe de Karplus).

La détermination de J permet donc de connaître approximativement l'angle Φ et donc la structure stérique de la substance.

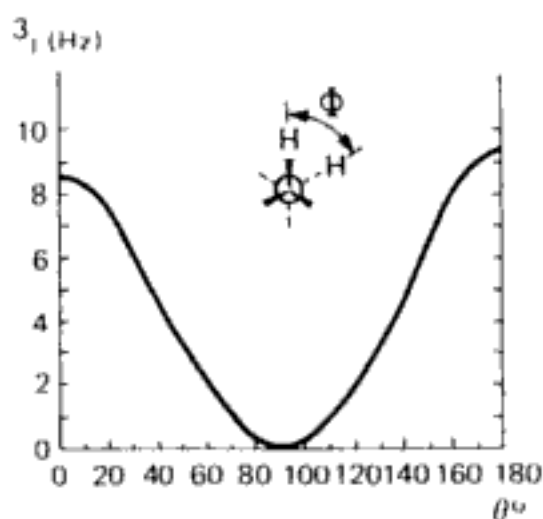


FIG. 77.

La RMN du proton permet ainsi de déterminer les configurations *cis* ou *trans*, axiales ou équatoriales, *thréo* ou *érythro*. Le couplage 3J entre deux protons est plus faible pour les formes *cis* que pour les formes *trans*.

Dans le dernier cas, si les deux groupements fonctionnels intéressés par la diastéréoisométrie ne forment pas entre-eux de liaison hydrogène, la constante de couplage de la forme *thréo* est supérieure à celle de la forme *érythro*. C'est au contraire l'inverse s'il y a formation d'une liaison hydrogène.

Détermination des hydrogènes mobiles. — Lorsque l'on envisage la présence de tels hydrogènes appartenant à des groupements hydroxyles (alcools, phénols, acides), thiols, amines ou amides, l'agitation de la solution dans un solvant hydrophobe non miscible (CDCl_3) avec une goutte d'eau lourde produit l'échange entre le proton et un noyau de deutérium. Ce dernier ne résonne pas dans les conditions opératoires prévues pour l'hydrogène. La bande correspondante disparaît alors du spectre.

• **Analyse quantitative.** — Elle est essentiellement l'apanage de la résonance magnétique du proton.

Détermination du nombre total de protons existant dans une molécule et du nombre correspondant à un groupement donné. — L'enregistrement d'un spectre de RMN du proton comporte généralement, en plus de celui des signaux produits par chaque résonance, la détermination de la courbe intégrale correspondant à la surface des pics enregistrés. Cette surface est évidemment proportionnelle au nombre de protons ayant subi la résonance, soit sous forme d'un seul pic, soit sous forme d'un multiplet. Il est ainsi possible, si l'on peut repérer la hauteur de la courbe intégrale correspondant à un nombre connu de protons d'un certain type (groupement méthyle par exemple), de déterminer le nombre total d'hydrogènes portés par la molécule et le nombre correspondant à chaque type de carbone : saturés, éthyléniques, aromatiques, etc...

Dans le domaine pharmaceutique, ou cosmétologique, où l'on utilise souvent comme excipients des polymères, tels que les dérivés de polyoxyéthylène glycols, il est ainsi possible de déterminer avec précision le nombre de chaînons oxyéthylénés greffés sur une molécule.

Dosage d'un principe actif dans un mélange. — Le dosage de substances diverses par RMN du proton, commence à être envisagé d'un point de vue pratique. En effet, les intégrateurs actuellement utilisés permettent une reproductibilité de l'ordre de 2 %. Comme cela a été mentionné ci-dessus, l'aire d'une bande d'absorption est directement proportionnelle au nombre de noyaux qui absorbent l'énergie à cette valeur donnée du champ magnétique.

Le dosage par résonance magnétique nucléaire doit donc être possible, à la seule condition que l'on puisse trouver au moins une bande de résonance du principe à doser, qui soit bien isolée et qui ne soit pas superposée avec d'autres bandes appartenant à d'autres produits. Il n'est pas nécessaire le plus souvent d'utiliser des solvants deutériés dans ce cas. En effet, si le pic à utiliser pour le dosage présente un déplacement chimique bien différent de celui des protons du solvant, ceux-ci peuvent résonner et donner un signal très important sans gêner pour autant le dosage. Le principe du dosage consiste à extraire, à l'aide d'un volume bien déterminé de solvant convenable, la substance à doser et à ajouter à la solution une quantité connue d'un étalon interne. Cette dernière substance, qui doit être un produit pur, est choisie de façon à ce que sa solubilité dans le solvant utilisé soit bonne et qu'elle donne en RMN un pic (ou un multiplet) net, isolé, facilement identifiable, bien séparé du pic de la substance à doser mais correspondant à des protons comparables à ceux que l'on a étudié sur le produit à doser. La détermination des hauteurs respectives des courbes d'intégration permet de connaître la teneur en produit à doser, compte tenu de la connaissance initiale des poids moléculaires de chaque produit, du nombre de protons mis en jeu dans chaque cas et du poids de l'étalon ajouté.

L'intérêt de tels dosages provient de leur rapidité, de l'inutilité fréquente d'une séparation préalable et de la possibilité de doser simultanément plusieurs produits même voisins.

Détermination du taux de liaison aux protéines d'un médicament. — La liaison avec une macromolécule entraîne la diminution du temps de relaxation spin-réseau (v. p. 163). Il est possible de relier cette diminution à la proportion de molécules ainsi liées.

En effet, dans le cas de la RMN à ondes continues, l'élargissement d'un ou plusieurs pics du spectre d'une solution d'un médicament en présence de protéines (sérum sanguin), mesuré par comparaison avec le spectre d'une solution du produit pur permet cette détermination.

Dans le cas de la RMN impulsionnelle, c'est par l'intermédiaire de la mesure des temps de relaxation que se fait ce calcul.

Dosages en chimie alimentaire. — Leur principe a été exposé précédemment. La RMN à basse résolution est une technique très répandue notamment dans l'industrie des corps gras. Par exemple, les qualités gustatives dépendent beaucoup de la teneur en « graisses concrètes » (solides) à la température de la cavité buccale et une simple série de mesures en RMN basse résolution à ondes continues aux températures de fusion des différents corps gras permet de réaliser cette détermination.

Il est également possible de doser par ce moyen, sur des graines déshydratées, sans aucun broyage ni aucune extraction, la teneur en lipides.

L'utilisation de la RMN impulsionnelle permet l'extension de ces contrôles automatisables et non destructifs à de nombreux domaines et notamment aux produits carnés.

NOTIONS DE RÉSONANCE PARAMÉTRIQUE ÉLECTRONIQUE

Principe

L'électron, doué de spin, possède un moment magnétique et il est donc possible d'observer la résonance magnétique de l'électron comme celle du proton ou d'un autre noyau doué de spin. On observe comme dans tous les autres cas où le spin peut prendre les valeurs $\pm 1/2$ une seule transition possible mettant en jeu l'énergie

$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} \vec{H}_0$$

Classiquement on n'utilise pas dans ce cas le rapport gyromagnétique et l'on écrit la variation d'énergie sous la forme

$$\Delta E = g\beta\vec{H}_0$$

β est une constante appelée magnéton de Bohr de valeur $9,2732 \times 10^{-24}$ Joules par tesla, et g est un coefficient caractéristique appelé facteur de séparation*.

La valeur de g est très proche de 2(2,0023) pour les électrons libres et varie de quelques centièmes pour les radicaux libres où les ions d'éléments de transition contenant des électrons non appariés. En effet, pour qu'il y ait résonance magnétique, il ne faut pas que tous les électrons soient associés par paires de spins opposés, sinon les moments magnétiques s'annulent 2 à 2 et il n'y a rien d'observable. Les composés possédant un tel électron célibataire sont paramagnétiques d'où le nom de résonance paramagnétique, donné à la technique (RPE)**.

Les électrons célibataires ont une grande tendance à coupler leur spin avec celui des noyaux voisins. Il en résulte une structure fine de la bande d'absorption, tout à fait analogue à celle qui a été décrite en RMN.

Mais les couplages sont souvent beaucoup plus nombreux que dans ce dernier cas, de telle sorte qu'il est très difficile de trouver les raisons de l'existence de toutes les raies dans un signal de RPE; à titre d'exemple, le radical libre éthyle produit un ensemble de quatre triplets.

* En anglais : splitting factor.

** On peut également trouver le nom de résonance du spin électronique : RSE.

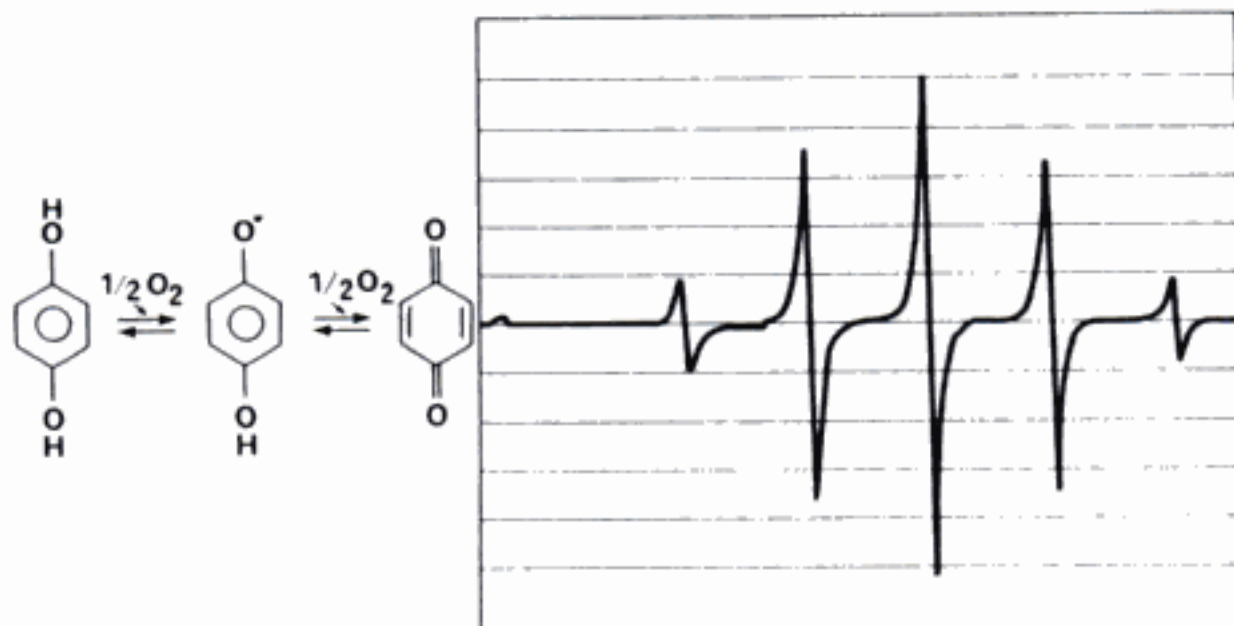


FIG. 78. — Spectre RPE de la semiquinone, intermédiaire dans l'oxydation de l'hydroquinone.

$$\nu_0 = 9\,500 \text{ MHz}, \quad H_0 \simeq 3\,400 \text{ G.}$$

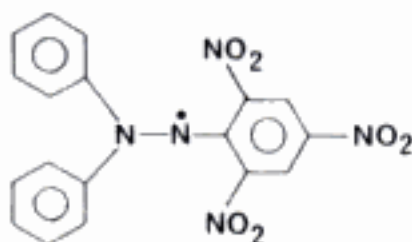
La résonance paramagnétique électronique est généralement réalisée à l'aide d'appareils utilisant des fréquences de l'ordre de 10 Giga-hertz (10^9 Hz) et même plus, donc beaucoup plus élevées que pour la RMN. La sensibilité de la méthode permet de détecter 10^{-8} à 10^{-10} mole de radical libre par gramme d'échantillon. Le spectre de RPE est habituellement enregistré sous forme de la dérivée première du spectre d'absorption classique afin de réaliser une plus grande résolution (fig. 78).

Applications

La résonance paramagnétique électronique permet d'étudier les radicaux libres formés lors de réactions chimiques et notamment lors de phénomènes d'oxydoréduction. Mais elle est également applicable à l'identification et à l'estimation de traces d'ions paramagnétiques dans des milieux complexes comme les milieux biologiques.

Ainsi le manganèse peut être détecté à la concentration de 10^{-9} M sans séparation préalable. Pour ces études, il est nécessaire comme en RMN de faire appel à des substances de référence. Celles-ci peuvent être

— soit des radicaux libres tels que le diphényl-1,1 picryl-2-hydrazyle qui est un produit stable avec un facteur g de 2,0036.



— soit des ions paramagnétiques.

Mais ces produits de référence ne peuvent généralement pas être mélangés à la solution à étudier sous forme d'étalon interne, car on ne peut guère alors le distinguer de la substance étudiée. Il faut réaliser successivement les enregistrements du spectre de référence et du spectre du milieu étudié.

Pour éviter cet inconvénient, il a été proposé de fixer solidement sur la cellule porte échantillon, un très petit éclat de rubis. Cette gemme contient en effet des traces de chrome III piégées dans son réseau cristallin, qui donnent une intense résonance avec un facteur $g = 1,4$.

CHAPITRE IX

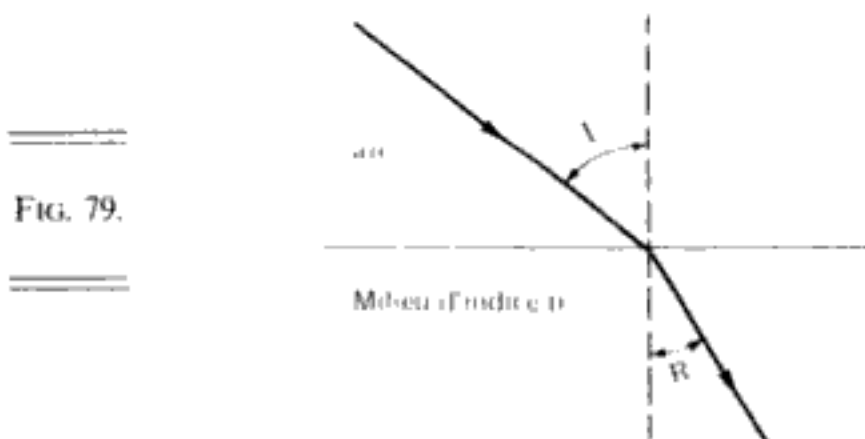
MÉTHODES OPTIQUES NON SPECTRALES

Parmi ces méthodes, deux au moins offrent un grand intérêt analytique et font appel l'une et l'autre à des variations de l'indice de réfraction. Ce sont la réfractométrie et la polarimétrie, toutes deux inscrites à la Pharmacopée.

RÉFRACTOMÉTRIE

Par définition, l'indice de réfraction est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et sa vitesse dans le milieu considéré : $n_0 = \frac{c}{v}$. Mais l'indice de réfraction est pratiquement toujours mesuré par rapport à l'air. C'est le rapport entre les sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré :

$$n = \frac{\sin I}{\sin R} \quad (1)$$



La valeur de cet indice dépend de la longueur d'onde de la lumière utilisée, mais aussi de la température. L'indice est alors symbolisé par n^t . Le plus souvent, on opère à 20 °C et avec la raie D du sodium : on obtient ainsi l'indice n_D^{20} .

Dans le cas de deux milieux matériels différents de l'air

$$n \sin I = N \sin R \quad \text{soit} \quad \frac{\sin I}{\sin R} = \frac{N}{n}$$

Les appareils les plus courants : réfractomètre de Pulfrich ou réfractomètre de Abbe, utilisent la détermination de l'angle limite défini par :

$$\sin R_l = \frac{n}{N}$$

où n est l'indice à mesurer et N l'indice connu et choisi volontairement élevé d'un verre.

La surface plane de séparation des deux milieux est éclairée par des rayons faisant avec la normale des angles I de différentes valeurs et notamment des rayons rasants dont l'angle d'incidence est maximum $\left(I = \frac{\pi}{2}\right)$.

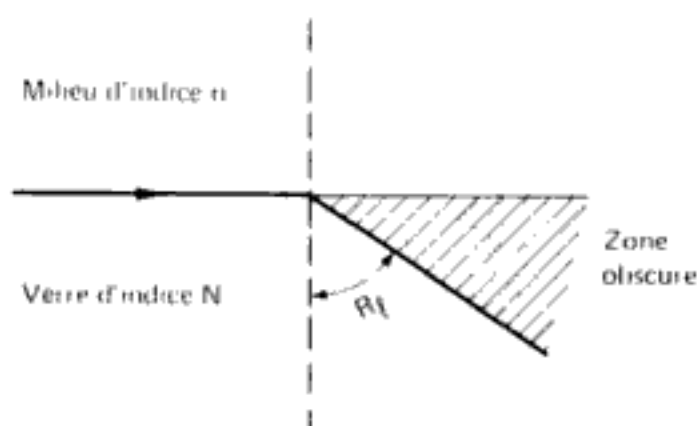


FIG. 80.

L'angle R_l est l'angle maximal possible pour la réfraction. Il est tel que :

$$N \sin R_l = n \sin \frac{\pi}{2} = n \quad (2)$$

Toute la zone correspondant à des angles supérieurs à R_l est donc obscure.

Dans tous les types de réfractomètres, l'observation est réalisée dans l'air, il y a donc lieu nécessairement d'envisager une autre réfraction entre le verre et l'air.

Dans le cas le plus simple (appareil de Pulfrich), le prisme de verre est un parallélépipède rectangle (fig. 81).

Il est surmonté d'une cuve contenant le liquide d'indice n inconnu. La première réfraction entre le milieu et le verre se traduit par l'équation (2).

La seconde entre le verre et l'air correspond à un angle α tel que :

$$N \sin \left(\frac{\pi}{2} - R_l \right) = \sin \alpha$$

soit

$$N \cos R_l = \sin \alpha \quad (3)$$

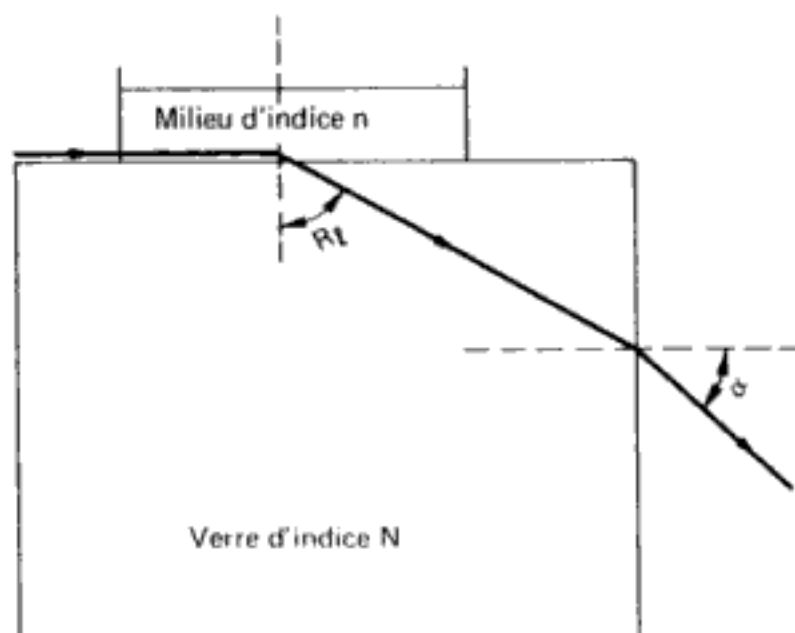


FIG. 81.

En élevant au carré (2) et (3) et en rappelant que $\sin^2 R_1 + \cos^2 R_1 = 1$ on obtient :

$$N^2 = n^2 + \sin^2 \alpha$$

soit

$$n = \sqrt{N^2 - \sin^2 \alpha}$$

L'indice N connu, la détermination de l'angle α permet de connaître l'indice de réfraction n .

L'intérêt de cette détermination est très grand dans de nombreux domaines pharmaceutiques ou alimentaires. Le contrôle de qualité des huiles et des essences utilise ainsi l'indice de réfraction comme un critère de pureté. Mais il est également possible de réaliser des dosages en solution. Ainsi le dosage des lipides dans les produits de charcuterie peut être effectué par cette méthode après extraction par le bromonaphtalène.

La variation de l'indice de réfraction est également d'un emploi très général pour déterminer une variation de composition d'une solution : c'est la raison pour laquelle l'un des détecteurs utilisés en chromatographie en phase liquide est un réfractomètre différentiel.

APPLICATIONS ANALYTIQUES DE LA POLARISATION DE LA LUMIÈRE

Le phénomène, qui est utilisé en chimie analytique n'est pas la polarisation de la lumière elle-même, mais la déviation du plan de polarisation de cette lumière déjà polarisée lors de son passage au travers d'une substance *optiquement active*, c'est-à-dire asymétrique. C'est le phénomène de la polarisation rotatoire qui est à l'origine des dosages polarimétriques, mais également de l'étude de la dispersion rotatoire et du dichroïsme circulaire.

Polarimétrie

Le phénomène de rotation du plan de la lumière polarisée est observé avec les substances asymétriques appelées pour cette raison optiquement actives. Il peut être interprété aisément, en considérant que la lumière polarisée rectiligne correspondant à une radiation monochromatique est composée de deux vibrations circulaires E_D et E_G possédant une résultante E (fig. 82) qui se trouve toujours dans le même plan si le faisceau lumineux ne traverse que des milieux isotropes.

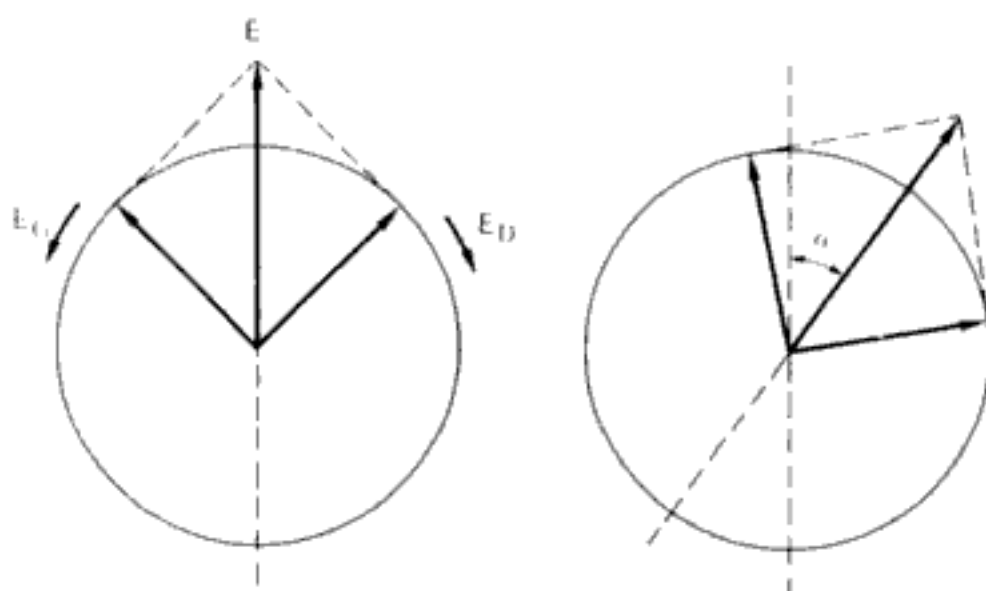


FIG. 82.

Si par contre ce faisceau traverse un milieu optiquement actif, les vibrations gauche et droite présentent des vitesses différentes. Ces vitesses v sont reliées par définition aux indices de réfraction n déterminés par rapport au vide par :

$$v = \frac{c}{n}$$

où c est la vitesse de la lumière dans le vide.

Le milieu possède donc deux indices de réfraction différents n_D et n_G . Après passage dans un milieu actif, l'une des deux vibrations se trouve donc en retard par rapport à l'autre. Ceci se traduit par une déviation du plan dans lequel vibre le champ électrique résultant $\vec{E}$, d'un angle α par rapport à la direction initiale.

La rotation α est reliée :

- aux indices n_D et n_G donc à la substance optiquement active,
- à l'épaisseur traversée l ,
- à la longueur d'onde λ de la lumière utilisée.

Si α est exprimé en radians, il est donné par :

$$\alpha = \frac{\pi}{\lambda} (n_G - n_D) l$$

Toutefois l'accès aux deux valeurs n_G et n_D est difficile.

● **Pouvoir rotatoire spécifique.** — Le cas des substances pures est déjà intéressant, dans le domaine analytique, en permettant l'évaluation d'un critère de pureté. Mais c'est surtout sur des solutions contenant un soluté optiquement actif que des dosages simples et précis peuvent être réalisés.

Dans ce cas, la *première loi de Biot* indique que l'angle de rotation est à la fois proportionnel à l'épaisseur traversée et à la concentration de la solution. La constante de proportionnalité est appelée pouvoir rotatoire spécifique et symbolisée par $[\alpha]_\lambda$.

L'angle α est donc donné par l'équation :

$$\alpha = [\alpha]_\lambda \cdot l \cdot c \quad (4)$$

L'épaisseur l est exprimée en décimètres (dm) et la concentration en grammes par millilitre.

La concentration d'une solution exprimée en $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ peut donc être déduite de cette équation. Elle est égale à $\frac{1\,000\alpha}{l[\alpha]_\lambda}$.

Influence de la longueur d'onde. — L'indice λ dont le pouvoir rotatoire spécifique est affecté indique que la valeur de ce dernier dépend de la longueur d'onde. Cette influence se traduit par la *deuxième loi de Biot* :

$$[\alpha]_\lambda = \frac{k}{\lambda^2} \quad (5)$$

Il est facile d'en déduire l'intérêt de mesurer un pouvoir rotatoire à une longueur d'onde aussi courte que possible, pour augmenter la précision de la mesure. Et si très souvent, c'est la raie D du sodium qui est utilisée pour déterminer le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$, on opère de plus en plus avec des polarimètres à lampe à vapeur de mercure, permettant de descendre jusque dans le domaine de l'ultraviolet.

Influence d'autres facteurs. — Parmi ceux-ci, on peut noter la nature du solvant, mais surtout la température. (Voir cours de Physique).

Dispersion rotatoire

Si au lieu d'envoyer sur la substance optiquement active un faisceau de lumière monochromatique, on émet un faisceau de lumière blanche, toujours bien entendu polarisée rectiligne, on observe à la sortie l'analogue d'un spectre.

En effet l'angle de rotation, en vertu des équations (4) et (5) est tel que :

$$\alpha = \frac{k}{\lambda^2} \cdot l \cdot c$$

Il en résulte que pour chaque radiation monochromatique, l'angle est différent.

Si la substance n'absorbe pas la radiation lumineuse, la courbe de dispersion rotatoire $[\alpha]_\lambda = f(\lambda)$ est de la forme indiquée figure 83.

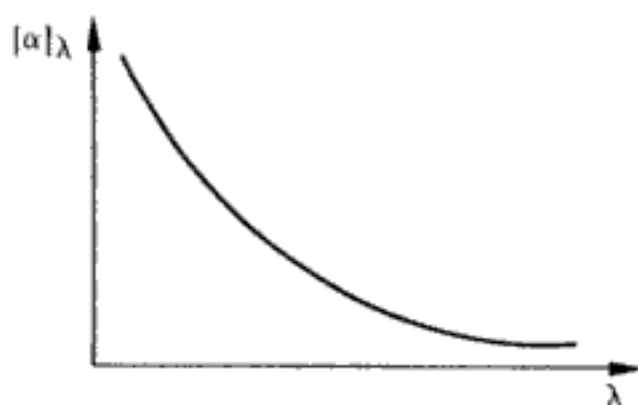


FIG. 83.

Dans le cas où on observe l'absorption de la lumière, celle-ci varie en fonction de la longueur d'onde, mais également elle est différente selon les deux vibrations circulaires composantes.

La conséquence sur l'angle de rotation et donc sur le pouvoir rotatoire spécifique est montrée dans la figure 84.

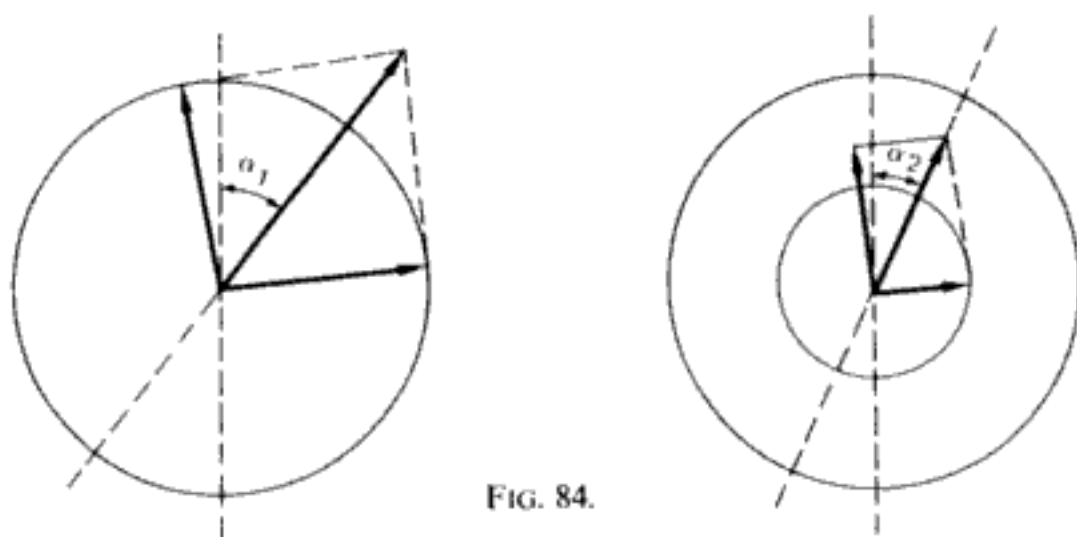


FIG. 84.

En effet, puisqu'il y a absorption différente, il y a une variation d'amplitude différente de chaque vecteur champ électrique. Au lieu d'observer une déviation α_1 de l'angle de rotation correspondant soit à une absorption nulle, soit à une absorption égale des deux vibrations circulaires, on constate un angle α_2 différent de α_1 . Cet angle α_2 et la valeur $\vec{E}$ du champ résultant varient au cours d'une rotation et il en résulte une polarisation *elliptique* et non plus rectiligne. Mais le grand axe de l'ellipse ainsi formée, qui permet de donner une valeur moyenne de l'angle de rotation, ne concorde pas avec le plan de polarisation correspondant au cas d'une absorption nulle. Il y a donc une variation anormale du pouvoir rotatoire spécifique en fonction de λ . C'est ce phénomène qui porte le nom d'effet Cotton.

Dans le cas général, on observe un maximum considérable précédé ou suivi par un minimum correspondant à l'effondrement du pouvoir rotatoire.

Dans le cas où le maximum se situe à une longueur d'onde supérieure à celle du minimum, l'effet Cotton est dit positif. Il est négatif dans le cas contraire ou $\lambda_{\text{max}} < \lambda_{\text{min}}$ (fig. 85).

Si le spectre d'absorption intéressant chacune des vibrations circulaires présente plusieurs bandes, on observe un effet Cotton multiple.

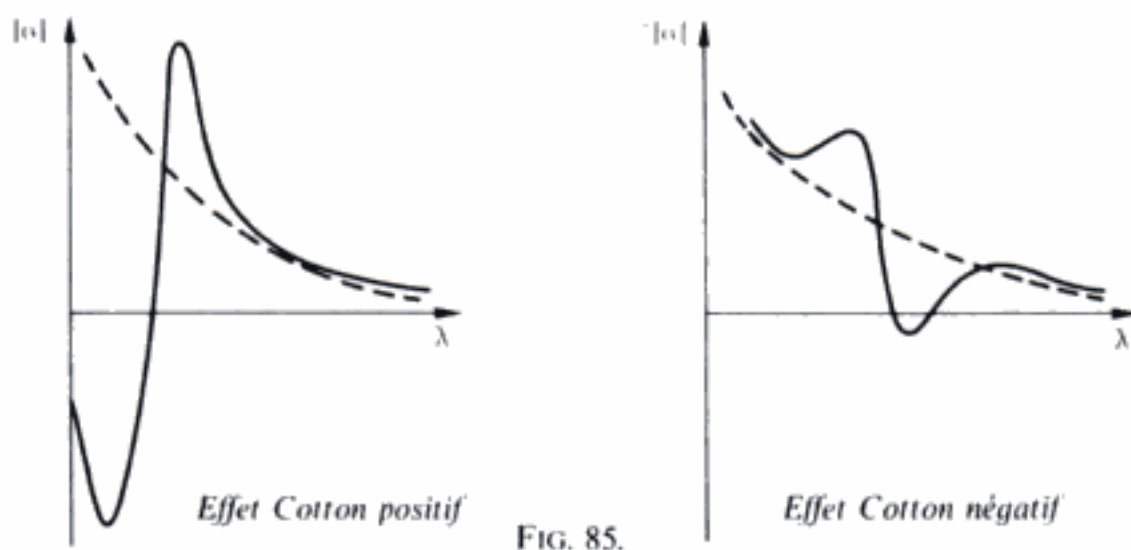


FIG. 85.

Dichroïsme circulaire

L'absorption de la lumière par une substance correspond à l'apparition d'une couleur. Puisque dans le cas de la lumière polarisée cette absorption est différente selon les deux vibrations circulaires, on observe donc une différence de couleur. La substance est donc devenue dichroïque et en raison de l'origine du phénomène, on parle de dichroïsme circulaire. Il est possible de déterminer les coefficients d'extinction E_D et E_G des deux vibrations et leur différence ΔE . L'enregistrement de cette variation ΔE en fonction de la longueur d'onde constitue l'analogue d'un spectre d'absorption classique où l'on enregistre la variation de E en fonction de λ .

Les deux phénomènes sont d'ailleurs étroitement liés, puisque l'on ne peut obtenir des valeurs suffisantes pour ΔE , que dans les régions du spectre où un chromophore de la substance absorbe. Cependant il existe une différence importante, c'est que le dichroïsme circulaire peut présenter des valeurs négatives ou positives, alors que l'absorption est toujours positive.

L'intérêt de l'étude de la dispersion rotatoire et surtout du dichroïsme circulaire est de déterminer les structures chirales absolues. Cette dernière méthode a été largement utilisée notamment dans la série des stéroïdes.

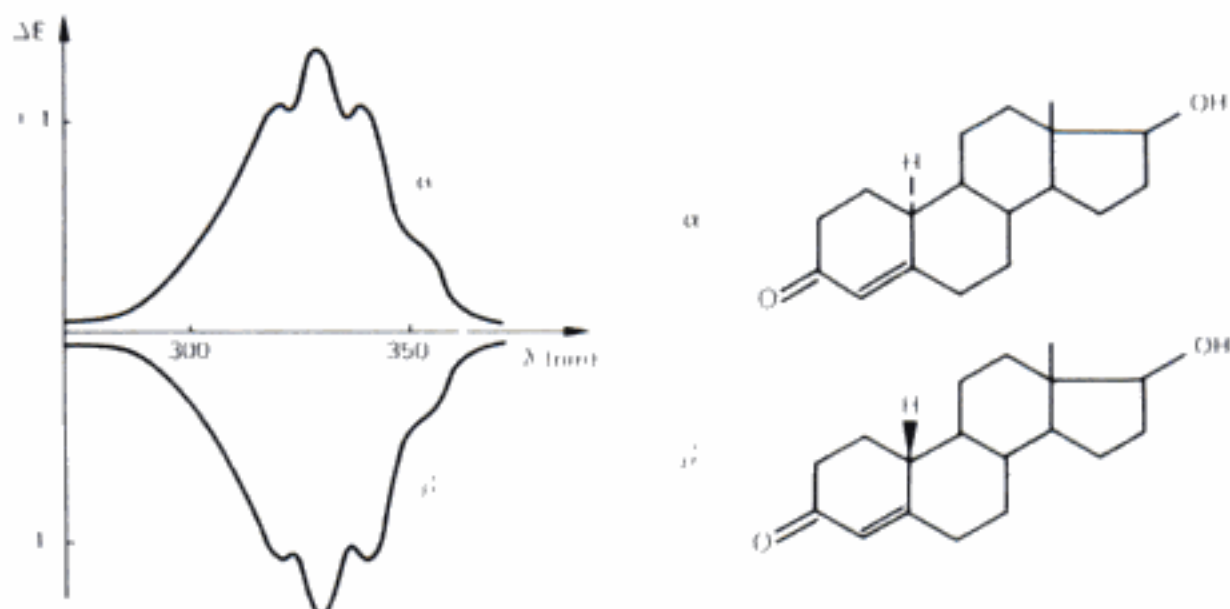


FIG. 86. — Spectres de dichroïsme circulaire de 2 stéroïdes isomères.

CHAPITRE X

SPECTROMÉTRIE DE MASSE

La spectrométrie de masse tire son origine de la découverte faite en 1886 par Goldstein de l'existence de rayons d'électricité positive. Les recherches entreprises à la fin du XIX^e et au début du XX^e siècle par Thompson, Dempster et Aston aboutirent à la construction d'appareils qui rendirent possible la séparation des ions positifs en fonction du *rapport de leur charge à leur masse*, m/z en mettant à profit leur différence de comportement dans les champs électriques et magnétiques.

Ces appareils restèrent longtemps l'apanage des laboratoires hautement spécialisés et permirent de déterminer la masse atomique et l'abondance des différents isotopes.

Les progrès de la technologie les ont rendus maintenant plus accessibles et, depuis une vingtaine d'années, on assiste au développement de cette méthode qui s'est révélée être un puissant outil analytique pour déterminer la composition, la structure et la masse moléculaire des composés. Leur dosage peut également être effectué par un procédé analogue (*fragmentométrie de masse*), qui permet d'évaluer avec une bonne précision des quantités de substances extrêmement faibles.

Ces appareils sont appelés *spectrographes de masse* lorsque la détection des ions se fait par des procédés photographiques et *spectromètres de masse*, lorsque la détection se fait par la mesure du courant électrique produit, ce qui est le cas le plus fréquent actuellement.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse, en associant la puissance séparative de la chromatographie et la sensibilité et sélectivité de la détection par spectrométrie de masse a augmenté les possibilités de chacune et explique son utilisation dans les études de pharmacocinétique et de métabolisme des médicaments.

Le développement de nouveaux procédés d'ionisation et le couplage à la chromatographie liquide (CL-SM), voire à la spectrométrie de masse elle-même (Spectrométrie de masse-masse, SM-SM) ouvrent de nouvelles perspectives en permettant l'analyse des composés non volatils, polaires et thermolabiles rencontrés dans les substances naturelles ou les milieux biologiques (osides, peptides, etc...).

PRINCIPE

La spectrométrie de masse repose sur l'ionisation et la fragmentation des molécules. Leur ionisation entraîne en effet une accumulation d'énergie qui, en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomiques et donner naissance à des fragments caractérisés par le rapport de leur masse à leur charge m/z^* . Les différents fragments ainsi produits, s'ils sont chargés positivement ou négativement, sont accélérés avant de parvenir à un analyseur, appelé parfois filtre de masse, qui les sépare en fonction du rapport m/z . Le recueil sélectif des différents ions permet l'établissement d'un spectre caractéristique appelé spectre de masse.

Appareillage

Un spectromètre de masse est constitué de quatre parties : — la chambre d'introduction, — la chambre d'ionisation, — l'analyseur, — l'ensemble collecteur-enregistreur (fig. 87).

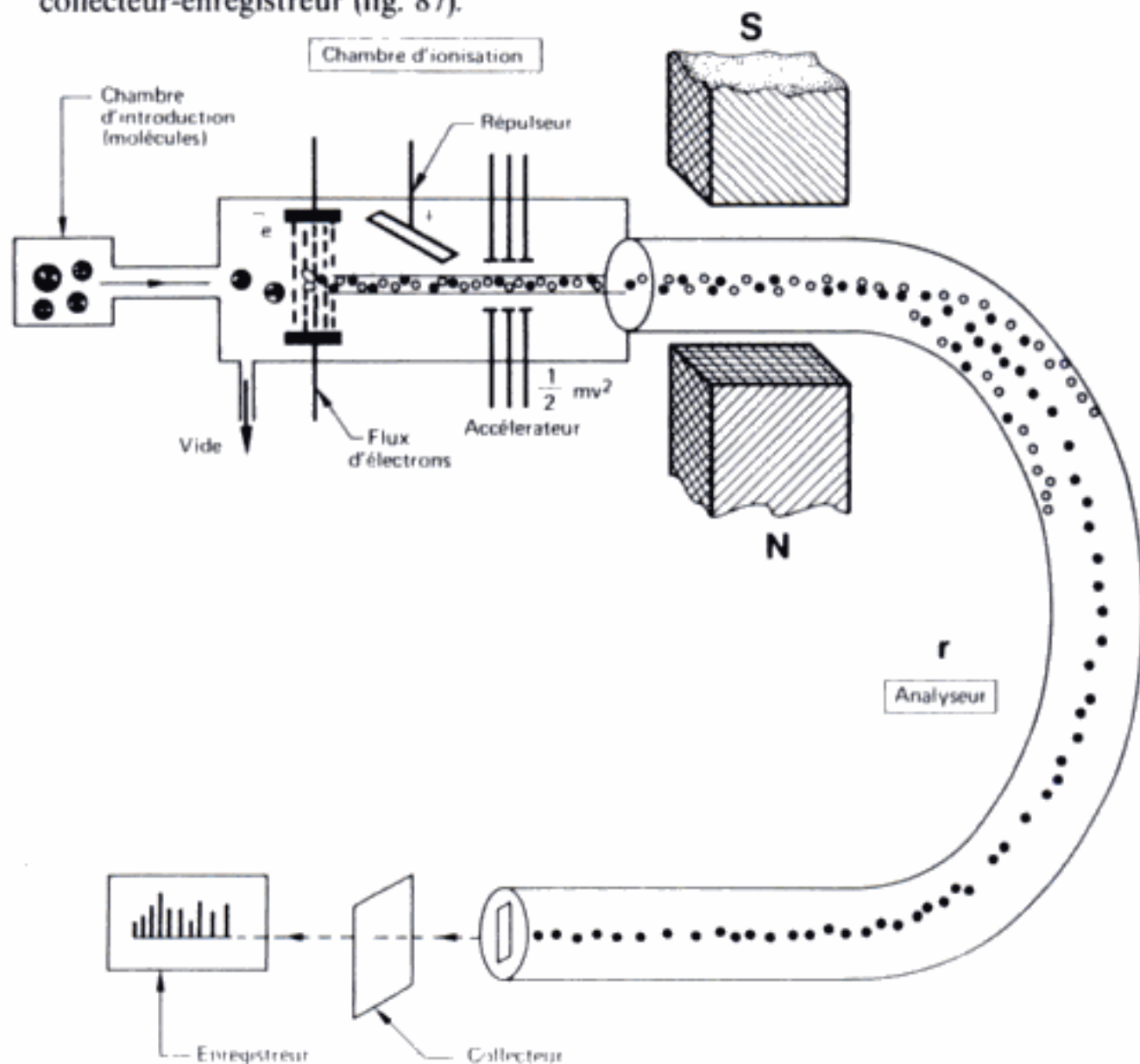


FIG. 87. — Spectromètre de masse : représentation schématique.

* Le symbole z indique une charge qui peut être égale ou multiple de celle de l'électron (e) (v. p. 17).

Cette volontaire simplification recouvre en fait une très grande variété de procédés, différant selon la conception de l'analyseur ou la formation des ions. On peut cependant expliquer le fonctionnement des spectromètres de masse en prenant comme exemple le plus ancien d'entre eux, où l'analyseur utilise les propriétés d'un champ magnétique et où l'ionisation se fait par impact d'électrons.

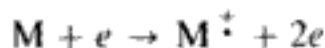
Description schématique

● **Chambre d'introduction.** — De très faibles quantités de substance allant de quelques microgrammes à quelques centièmes de microgrammes, sont introduites à l'aide de dispositifs variés dans une enceinte où existe un vide très poussé.

Cet échantillon peut être à l'état de vapeur, mais également à l'état solide ou liquide. Dans ces derniers cas, il doit être instantanément volatilisé ce qui est rendu possible par la très basse pression et le chauffage éventuel de la chambre. Un système de pompage provoque l'écoulement de la vapeur à travers un petit orifice et la fait pénétrer dans la chambre d'ionisation. Cette fuite moléculaire doit être régulière pendant tout l'enregistrement du spectre.

● **Chambre d'ionisation.** — **Formation d'ions positifs.** — Plusieurs procédés peuvent être utilisés, mais seuls sont retenus pour cette description, ceux faisant appel au bombardement d'électrons.

Dans cette enceinte où la pression est maintenue aux environs de 10^{-5} torr les molécules provenant de la chambre d'introduction entrent en collision avec un flux d'électrons de fortes énergies. L'impact d'un électron sur une molécule provoque l'expulsion d'un électron créant ainsi un ion positif appelé *ion moléculaire*. C'est un *ion radical* représenté par le symbole M^+ .



L'énergie des électrons étant en général de l'ordre de 70 électrons-volts, elle est suffisante pour provoquer, en partie ou parfois en totalité, la décomposition de l'ion moléculaire qui donne alors naissance à un certain nombre de fragments ioniques ou radicalaires. Leur nombre et leur nature sont dans les conditions employées une caractéristique de la substance considérée.

Ceci peut être illustré par l'exemple classique de la fragmentation du méthanol (fig. 88).

On retrouve quatre fragments principaux auxquels on attribue les structures suivantes :

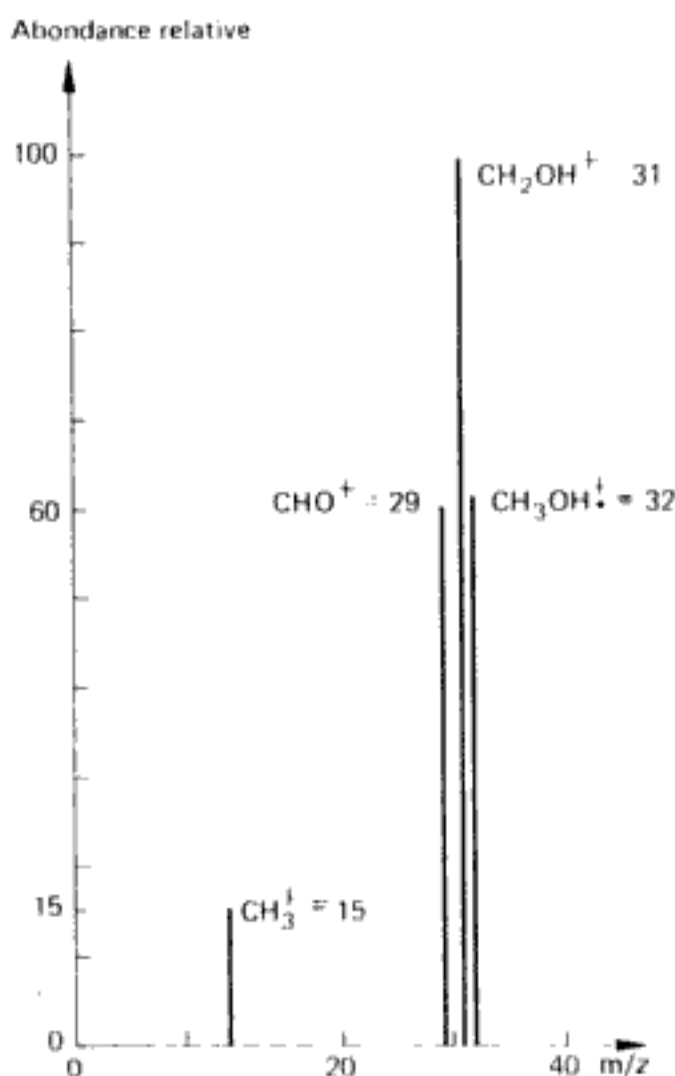
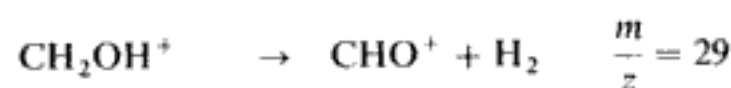
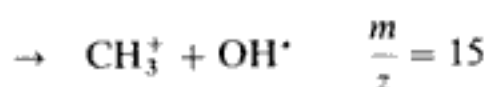
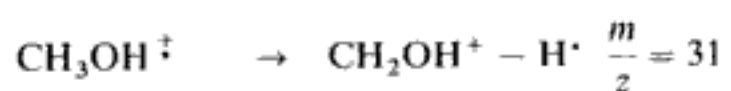
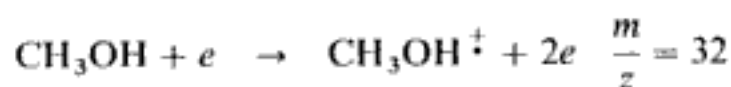


FIG. 88. — Spectre de masse du méthanol.

Il y a donc formation outre l'ion radical moléculaire $\text{CH}_3\text{OH}^{\cdot+}$, d'ions positifs CH_2OH^+ , CH_3^+ , CHO^+ et des radicaux $\text{H}^{\cdot}$ et $\text{OH}^{\cdot}$.

La pression de la chambre d'ionisation étant très faible, les collisions secondaires sont peu fréquentes et dans la plupart des cas on n'observe que des réactions unimoléculaires.

Accélération des ions. — Les ions positifs ainsi formés sont chassés de la chambre à l'aide d'un potentiel légèrement positif appliqué à une plaque métallique appelée *répulseur*, puis accélérés par passage entre deux séries d'électrodes auxquelles sont imposées de très fortes différences de potentiel.

Pour un ion de masse m , son énergie cinétique dépend du champ électrique de potentiel V auquel il est soumis et de la charge z de cet ion :

$$Vz = \frac{1}{2} mv^2 \quad (1)$$

v est la vitesse prise par l'ion. Les énergies cinétiques de tous les ions, à la sortie du champ d'accélération, sont identiques. Ils sont animés d'un mouvement rectiligne et uniforme mais la vitesse diffère en fonction de leur masse et de leur charge.

• **Analyseur.** — Il est constitué dans l'exemple choisi par un tube métallique recourbé et placé dans le champ d'un électroaimant. Les ions positifs accélérés entrent dans ce tube où existe une pression encore plus faible que dans la chambre d'ionisation soit 10^{-2} à 10^{-6} pascal ou selon l'usage en spectrométrie de masse 10^{-3} à 10^{-8} Torr*. Ils subissent l'influence du champ magnétique perpendiculaire à leur trajectoire; celle-ci subit ainsi une déviation. La force centripète, Bzv , exercée par le champ magnétique** équilibre la force centrifuge $\frac{mv^2}{r}$ du mouvement circulaire uniforme de rayon r prise par l'ion.

$$Bzv = \frac{mv^2}{r} \quad (2)$$

Le remplacement de v par sa valeur extraite de (1) permet d'obtenir les relations :

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2V} \quad \text{et} \quad r = \sqrt{\frac{2Vm}{B^2 z}} \quad (3)$$

Le rayon de courbure r de la trajectoire d'un ion de masse m et de charge z dépend donc du champ magnétique et du potentiel d'accélération.

Pour un appareil donné, le rayon de courbure du tube analyseur est fixe : seuls les ions dont le rayon de courbure r correspond à celui du tube peuvent alors poursuivre leur chemin jusqu'au collecteur, les autres se perdant dans les parois.

En faisant varier régulièrement le champ magnétique ou la différence de potentiel et en maintenant l'autre paramètre fixe, on peut permettre successivement à tous les ions de rapports m/z différents de correspondre, à un moment donné à une courbure r et d'être ainsi recueillis sur le collecteur.

* 1 torr = 133,37 pascal.

** B est l'induction magnétique (v. p. 155).

En général, l'accélération est maintenue constante, le champ magnétique varie lentement et le spectre est balayé dans le sens des masses croissantes.

● **Collecteur et enregistreur.** — Plusieurs fentes collimatrices vont focaliser les fragments sur une plaque collectrice placée à l'extrémité de l'analyseur. Chaque impact d'ion est amplifié par un dispositif électronique et transmis à un enregistreur qui traduit l'intensité des signaux en fonction du balayage du champ magnétique ou de la variation du potentiel.

A chaque signal correspond un faisceau d'ions dont le rapport m/z est différent : cet enregistrement est appelé *spectre de masse*.

La figure 88 représente le spectre de masse simplifié du méthanol; en abscisse sont portés les ions de rapports successifs m/z ; en ordonnée l'intensité de chaque faisceau d'ions exprimée souvent en pourcentage d'abondance relative par rapport au pic le plus élevé.

Le pic correspondant à $m/z = 31$ étant le plus important, on lui attribue la valeur de 100 %. Il est appelé *pic de base*. Les intensités des autres sont exprimées relativement à lui.

REMARQUE. — Bien que toutes les molécules puissent théoriquement former des impacts, seul environ un millionième d'entre elles pourront atteindre le collecteur. La sensibilité de cette méthode est cependant telle que l'on peut obtenir des spectres avec des quantités inférieures au microgramme.

IONISATION

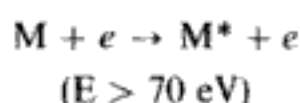
Différents procédés d'ionisation sont mis en œuvre; mais pour leur bonne compréhension, est abordée en premier l'ionisation par bombardement d'électrons ou impact électronique.

Un échantillon gazeux de la molécule à analyser, sous très faible pression (10^{-3} torr), interagit avec un faisceau d'électrons. Les électrons sont émis dans une chambre appelée source d'ionisation, par un filament de rhénium ou de tungstène chauffé à 2000°C. Ils sont ensuite accélérés par variation du potentiel imposé entre le filament et les parois de la source.

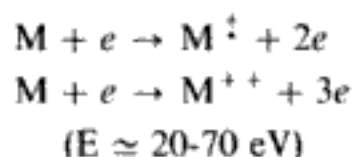
Un électron en mouvement possède une onde associée dont la longueur dépend de son énergie cinétique exprimée en électrons-volt ($1 \text{ eV} = 96 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). Elle est donc fonction du potentiel d'accélération imposé. Un électron accéléré par une énergie de 20 eV est associé à une onde dont la longueur est de 0,27 nm; elle est de 0,14 nm si l'énergie est de 70 eV. Les distances sont de l'ordre de grandeur des liaisons des molécules organiques.

Lors de la rencontre de tels électrons avec une molécule, cette onde est perturbée et transformée en une onde complexe dont une des composantes peut se trouver en phase avec un électron d'une des liaisons de la molécule. Elle provoque ainsi le passage d'un niveau vibrationnel de l'état fondamental à un niveau vibrationnel supérieur. Selon l'énergie cinétique E de l'électron ionisant, il peut y avoir formation :

— de molécules excitées

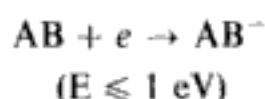


— d'ions positifs par expulsion d'un ou plus rarement de deux électrons

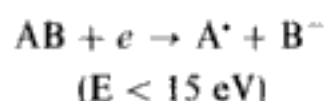


— d'ions négatifs

. par capture d'un électron



. par capture dissociative



. par formation de paires d'ions



Les molécules sont caractérisées par leur aptitude à réagir avec les électrons accélérés. Cette aptitude est exprimée par leur section efficace d'ionisation, et leur potentiel d'ionisation.

● **Section efficace d'ionisation.** — Le nombre de molécules dN_i ionisées par unité de volume pendant un temps dt exprimé en secondes est proportionnel d'une part au flux des électrons φ (nombre d'électrons émis par unité de surface et par seconde), au nombre de molécules présentes N et, d'autre part, à une constante de proportionnalité caractéristique de chaque substance ayant la dimension d'une surface σ .

$$dN_i = \sigma N \varphi dt$$

$$\sigma = \frac{dN_i}{N \varphi dt}$$

Le rapport dN_i/Ndt est généralement très faible et voisin de 10^{-6} .

● **Potentiel d'ionisation.** — Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule, exprimé en électrons-volt (eV), correspond à l'énergie nécessaire pour expulser un électron d'une orbitale qui, en général, est la plus externe. Comme pour les atomes isolés (v. p. 17), il peut exister plusieurs potentiels d'ionisation.

L'abondance des ions formés est fonction de l'énergie des électrons ionisants, le maximum se situant entre 50 et 100 eV (5 à 10 fois le potentiel d'ionisation des molécules). On accélère en général les ions avec une énergie de 70 eV, car, à cette valeur, les légères perturbations pouvant se produire dans la source ont peu de conséquences (fig. 89).

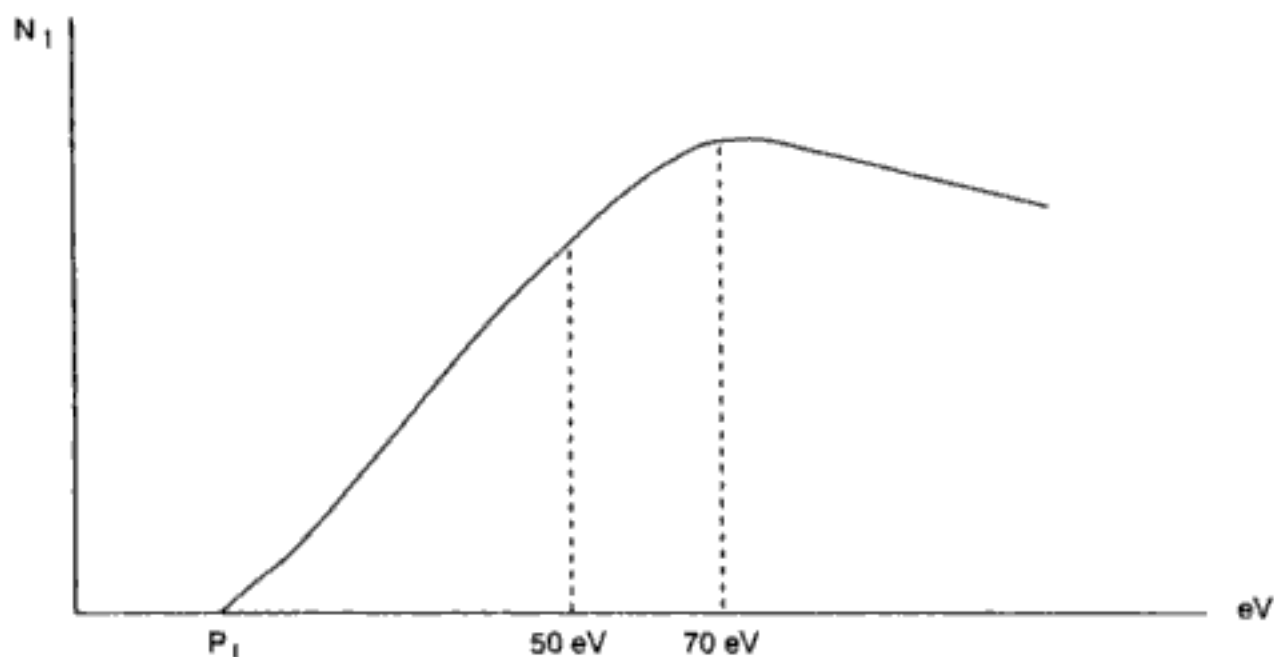


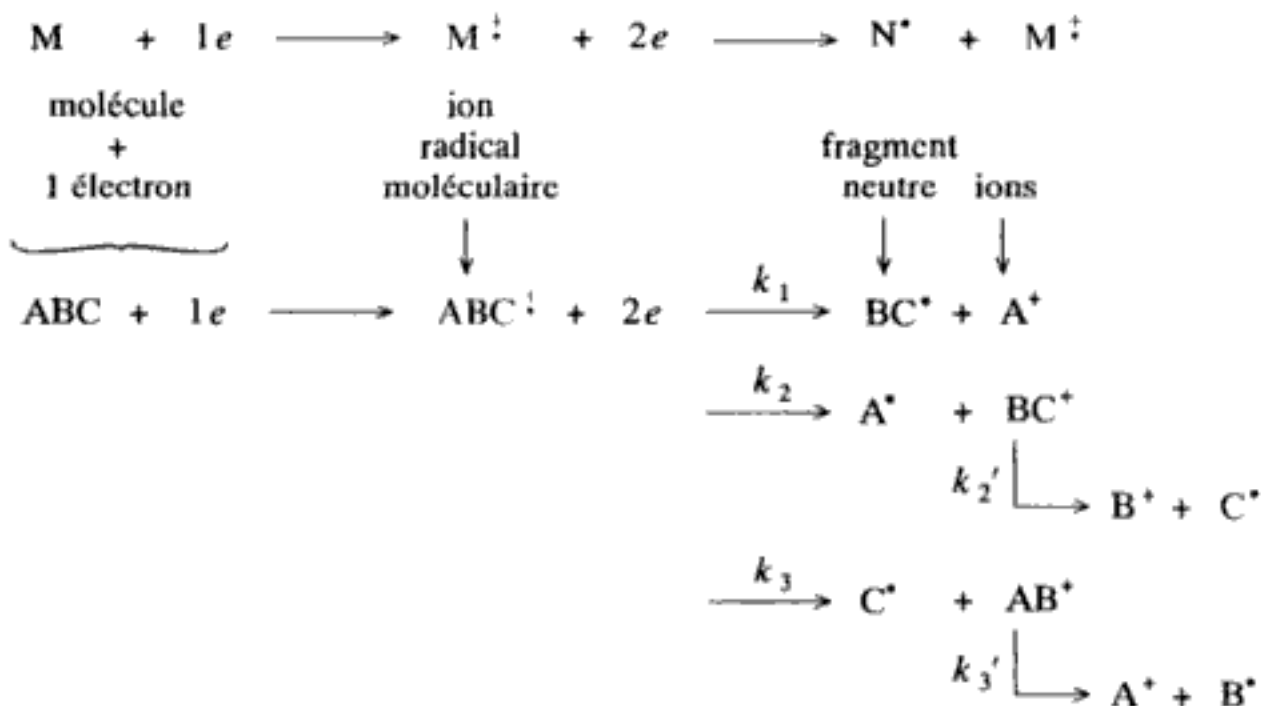
FIG. 89.

L'ionisation positive ou négative d'une molécule s'accompagne de l'accroissement de son énergie interne qui se répartit statistiquement entre les différents niveaux vibrationnels ou rotationnels de l'état considéré.

L'énergie interne des ions radicalaires $M^{\cdot+}$ produits ne peut dépasser 10 à 20 eV quelle que soit l'énergie des électrons ionisants, ceci tient au fait que la transition verticale est très rapide (principe de Franck Condon) et que le déplacement des courbes de potentiels vers la droite annule pour certaines valeurs la probabilité des autres transitions verticales.

FRAGMENTATION

Les ions moléculaires $M^{\cdot+}$ peuvent dissiper leur excès d'énergie interne en se fragmentant pour donner un ou plusieurs ions et une ou plusieurs espèces neutres :



Les spectres de masse étant reproductibles dans des conditions expérimentales identiques, on considère qu'ils sont le résultat d'un ensemble de réactions *unimoléculaires, consécutives et compétitives*.

Ces réactions sont qualifiées d'*unimoléculaires* car l'ionisation s'effectue dans une source où règne une très faible pression et l'on considère que le risque de collision entre les molécules est pratiquement inexistant. Chaque ion, M_1^+ conserve la même énergie que celle acquise au moment de sa formation et toutes les fragmentations se font donc à partir d'espèce unique M^+ .

On a pu expliquer la formation des fragments obtenus après impact électronique en transposant « la théorie du quasi équilibre » établie pour les molécules neutres. Elle repose sur la transformation de l'excès d'énergie apporté par l'ion ionisant, en énergie vibrationnelle se distribuant de manière statistique et rapide selon les différents degrés de liberté de l'ion. Une suite de conversions internes conduit à accumuler l'énergie dans un même état électronique pour donner naissance à un « complexe activé ».

Lorsque la quantité d'énergie existant dans cet état est suffisante, elle entraîne la rupture de la liaison par formation d'un fragment ionique qui conserve une certaine énergie et d'un fragment neutre.

Par un mécanisme identique, le fragment ionique, s'il a conservé suffisamment d'énergie, se dissocie à son tour et une suite de réactions *consécutives* peut se produire tant que l'énergie des fragments le permet et dépasse une valeur seuil. L'énergie cinétique étant la même, la fragmentation se reproduit toujours de manière identique.

Cependant plusieurs possibilités de fragmentation peuvent se produire et, dans ce cas, il y a *compétitivité* entre chacune de ces réactions de premier ordre caractérisées par leurs constantes de vitesses, $k_1, k_2, k_3, \dots$. Elles dépendent de l'énergie interne du fragment initial et des produits formés. C'est ainsi que pour une énergie donnée, la réaction qui a la plus grande constante de vitesse domine les réactions donc les constantes de vitesse sont plus faibles. Soient deux réactions, la première (1) correspondant à un réarrangement, l'autre (2) à une rupture de liaison dont les constantes de vitesses en fonction de l'énergie interne sont représentées sur la figure 90. Si l'ion initial possède une énergie interne E_1 , c'est la réaction 1 qui se produit, si l'ion possède l'énergie interne E_2 , il y a compétition entre ces deux réactions mais c'est la réaction 2 dont la constante de vitesse est supérieure qui prédomine.

Procédés d'ionisation

L'analyse par spectrométrie de masse, à son origine, ne s'intéressait qu'aux ions positifs, mais il est apparu que la formation d'ions négatifs permettait avec une très grande sensibilité d'identifier et de doser les molécules électrophiles.

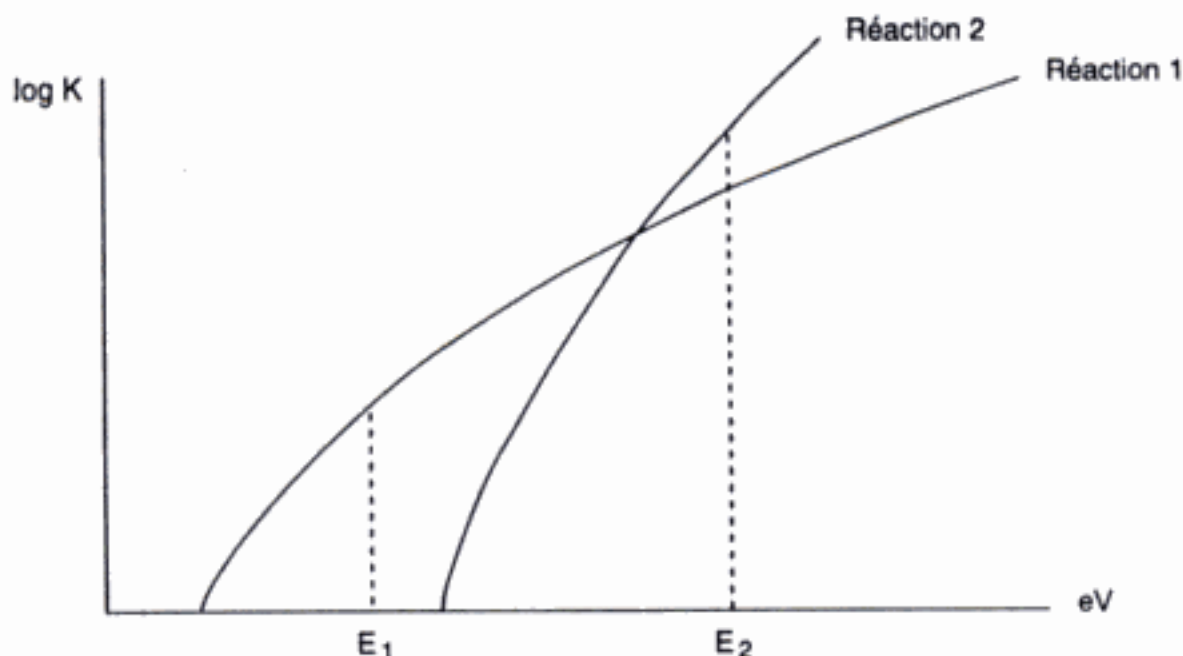


FIG. 90.

Il faut donc envisager les deux modes d'ionisation ainsi que de nouveaux procédés plus adaptés aux éléments minéraux et aux substances peu volatiles ou thermolabiles rencontrés dans les milieux biologiques (peptides, oligosaccharides, etc...).

● **Formation d'ions positifs. — Ionisation par bombardement d'électrons.** — Ce procédé représenté dans la description schématique (p. 199) est le plus ancien. Un flux d'électrons dont l'énergie peut aller de quelques électrons-volts à 100 eV est émis par un filament chauffé et, attiré perpendiculairement par une électrode chargée positivement. Ces électrons traversent l'enceinte et rencontrent le flux moléculaire de l'échantillon.

Facile à mettre en œuvre, ce procédé donne un flux d'électrons dont l'intensité peut être bien contrôlée et possède une bonne efficacité. L'ionisation par impact d'électrons, faisant appel à une forte énergie, présente l'avantage de favoriser une fragmentation importante et, par la même, de donner une véritable fiche d'identité de l'échantillon : deux molécules différentes n'ayant que très peu de chance de donner le même spectre. Elle a, en contrepartie, l'inconvénient de rendre très faible le signal du pic moléculaire et de donner des spectres trop chargés.

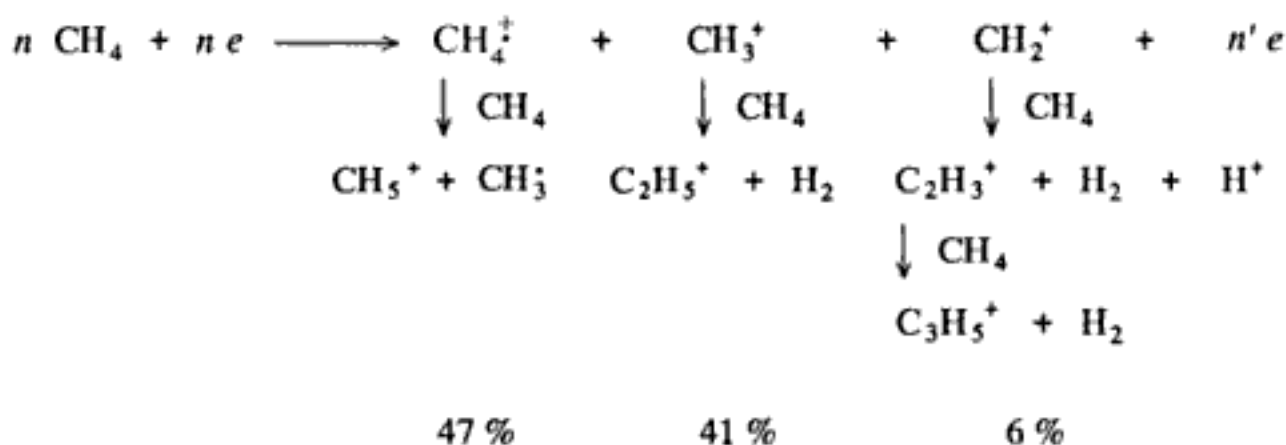
Pour des raisons de stabilité, un flux d'électrons de 70 eV est généralement utilisé. Les spectres obtenus sont spécifiques et caractéristiques des substances. La plupart des atlas spectraux ont été établis avec cette énergie.

Ionisation chimique. — L'ionisation chimique, au contraire, requiert peu d'énergie, donne des spectres plus simplifiés, comportant un pic important, voisin d'une unité de masse du pic moléculaire, formé par perte ou gain d'un ion hydrogène ($M \pm H$).

Le principe en est le suivant : les molécules gazeuses de l'échantillon à analyser sont introduites dans la chambre d'ionisation en même temps qu'un gaz réactif* : méthane, isobutane ou ammoniac. Les proportions et les pressions relatives de l'échantillon (10^{-6} torr) et du gaz réactif (0,3 à 3 torr) sont très différentes. Un faisceau d'électrons bombarde les molécules et du fait des très faibles concentrations de l'échantillon, seules les molécules du gaz sont ionisées et fragmentées. Les fragments très réactifs ainsi formés réagissent à leur tour sur les molécules de l'échantillon et provoquent leur ionisation.

Si l'on prend comme exemple le méthane, gaz souvent employé et son comportement vis-à-vis de molécules accepteurs ou donneurs de protons, on observe les réactions suivantes :

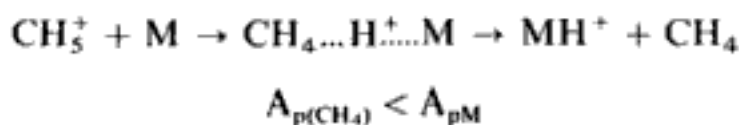
1° Le méthane est tout d'abord ionisé en plusieurs espèces qui peuvent réagir avec les molécules non ionisées et donner un plasma (v. p. 34) constitué de différents ions réactifs, méthane, éthylène, acétylène protonés dont les proportions varient en fonction des pressions existant dans la source.



2° Les espèces ainsi formées ionisent alors les molécules de l'échantillon en donnant des ions pseudomoléculaires.

— soit par addition de proton $\text{M} + \text{RH}^+ \rightarrow \text{M} \cdots \text{H}^+ \cdots \text{R} \rightarrow \text{MH}^+ + \text{R}$ lorsque l'affinité protonique de M, (A_{pM}), est supérieure à celle de R.

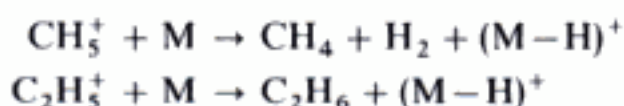
Ex. :



La réaction sera d'autant plus intense que la différence des affinités protoniques est grande. Dans ce cas, CH_5^+ se comporte comme un acide fort de Brönsted.

* En anglais : reactant gas.

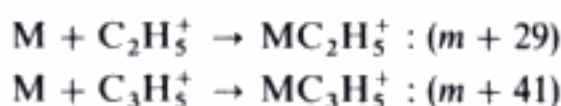
— soit par soustraction de protons



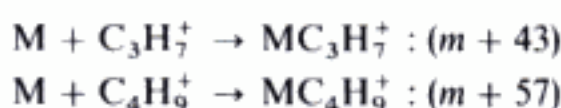
M se comporte alors comme un acide vis-à-vis du gaz réactif.

On peut observer également des pics moins intenses qui correspondent à la formation de composés d'addition avec les ions du gaz réactif.

Avec le méthane :



Avec l'isobutane :



Avec l'ammoniac :



Les gaz réactifs peuvent être classés en fonction de leur affinité protonique (tableau XXIV).

L'ammoniac permet d'obtenir des pics MH^+ ($m + 1$) et MNH_4^+ ($m + 18$) de grande intensité mais peu de fragmentation; l'isobutane présente une affinité protonique supérieure à celle du méthane et le cation réactif prédominant, l'ion tertibutyle, donne essentiellement MH^+ .

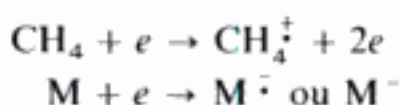
Tableau XXIV. — CARACTÉRISTIQUES DES GAZ RÉACTIFS UTILISÉS EN IONISATION CHIMIQUE.

Gaz réactif	Affinité protonique $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	Ions réactifs	m/z	Abondance %
Méthane CH_4	515	CH_5^+ C_2H_5^+ C_3H_7^+	17 29 43	47 41 6
Isobutane C_4H_{10}	815	C_4H_9^+ C_3H_7^+ C_3H_3^+	57 43 39	93 4 3
Ammoniac NH_3	865	NH_4^+ $\text{NH}_3 \cdots \text{NH}_4^+$	18 35	97 3

● **Formation d'ions négatifs.** — Au cours de l'ionisation par impact électronique, il y a toujours formation d'ions négatifs en faible quantité ($< 4\%$). Ces ions peuvent être décelés en inversant la polarité des collecteurs mais pour obtenir

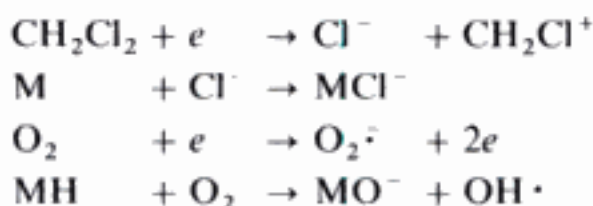
une bonne sensibilité, il faut accroître leur formation en faisant appel à divers procédés :

Production d'électrons thermiques ou électrons lents. — Ils sont obtenus en grande quantité lorsque les électrons ionisants à 70 eV pénètrent dans une chambre d'ionisation où se trouve un gaz réactif sous une pression voisine d'un torr. Ils sont ralentis par collision avec ce gaz et l'un des électrons émis lors de l'ionisation, dans ces conditions, possède une énergie moindre (1 à 10 eV). Cet électron dit électron thermique ou électron lent peut, comme il est indiqué page 204, être capté par une molécule neutre et électrophile M, et donner un ion radicalaire $M^{\cdot}$ ou négatif M^- . En prenant en exemple le méthane comme gaz réactif :

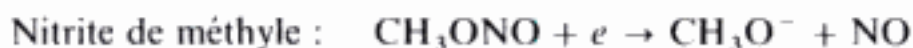
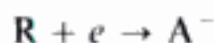


Formation d'espèces réactives. — A des pressions également voisines de 1 torr, l'ionisation de certains composés favorise la production d'espèces négatives qui peuvent réagir avec les molécules M en leur conférant des charges négatives :

— Le dichlorométhane ou l'oxygène peuvent donner naissance à des ions MCl^- ou MO^- .



— Le nitrite de méthyle, l'acétonitrile, l'acétylène et l'acétone donnent naissance à des ions négatifs A^- qui se comportent comme des bases de Brønsted à l'égard des molécules neutres et réagissent en leur arrachant un proton.



Les composés $(\text{M} - \text{H})^+$ ainsi formés sont dix à mille fois plus abondants que les ions MH^+ , après ionisation positive.

Les spectres sont très simples, ils se limitent à deux ou trois fragments caractéristiques qui peuvent être utilisés pour le dosage des molécules sensibles au processus de capture d'électrons (dérivés halogénés, hydrocarbures polycycliques, etc...).

● **Principaux autres procédés. — Ionisation de champ et désorption de champ.** — Un champ électrique positif très élevé (10^7 à 10^8 volts/cm) est produit dans la chambre à ionisation entre une partie métallique en forme de pointe et une électrode portée à un très haut potentiel. Ce champ agit sur les molécules à analyser en provoquant le départ d'un électron, c'est l'*ionisation de champ*, créant ainsi un ion positif qui est ensuite accéléré et introduit dans l'analyseur : l'énergie produite (12 à 13 eV) correspond juste à celle nécessaire au départ d'un seul électron. Le potentiel d'ionisation moléculaire des composés organiques étant compris généralement entre 7 et 12 eV, il ne reste donc que très peu d'énergie excédentaire ce qui limite les fragmentations.

Une variante de ce procédé est appelée *ionisation par désorption de champ*. L'échantillon à analyser est déposé et adsorbé sur la partie métallique. Le potentiel imposé provoque la désorption et, les molécules chargées positivement ainsi formées, sont décelées par les procédés habituels.

L'avantage de cette méthode est la grande intensité du pic de l'ion moléculaire et la possibilité de s'adresser à des substances solides, peu volatiles ou thermolabiles.

Ionisation par bombardement d'atomes accélérés (FAB). — L'échantillon, dispersé à l'état solide, généralement dans une matrice de glycérol, est ionisé en bombardant la matrice avec des atomes d'argon ou de xénon (5 à 10 kV). La particularité de l'équipement FAB consiste en l'introduction d'un canon d'ions dans la chambre d'ionisation : le bombardement par des électrons, d'atomes d'argon fournit des ions Ar^+ qui, accélérés sont retransformés par fixation d'électrons en atomes d'une énergie équivalente à celle des ions. Ces atomes très énergétiques provoquent l'expulsion, hors de la matrice, de la molécule généralement intacte, qui est ensuite ionisée en donnant des ions $(\text{M} + \text{H})^+$, permettant l'obtention des spectres de masse d'ions positifs, ou $(\text{M} - \text{H})^-$ donnant des spectres de masse d'ions négatifs. La formation de ces ions, facilitée par la nature de la matrice, est complexe. Elle est due probablement à des réactions de transfert de protons, au moment où les molécules sont bombardées et passent en phase gazeuse. Il est possible de maintenir pendant plusieurs minutes une production d'ions constante dans le temps, ce qui permet de multiplier les investigations : la persistance du processus d'ionisation favorise la formation d'ions qui se fragmentent en dehors de la source d'ionisation et après la phase d'accélération. Ils sont appelés *ions métastables* et apparaissent sous forme de pics élargis. Ils nécessitent, pour être détectés, des analyseurs magnétiques à double focalisation ou à temps de vol. Leur identification facilite les interprétations.

Ionisation par bombardement ionique et spectres d'émission secondaires (SIMS)*. — À partir également de composés déposés à la surface d'un support ou dissous dans une matrice, on peut obtenir des spectres facilement interprétables en bombardant l'échantillon avec des ions césium ou xénon

* SIMS = secondary ionisation mass spectrometry.

d'une énergie variant entre 2 et 15 keV. Les ions émis par les substances organiques sont dits « secondaires ». Ils sont analysés à l'aide d'un spectromètre de masse à double focalisation ou d'un appareil à temps de vol. Les spectres SIMS sont largement influencés par la nature du support (film de polyester imprégné d'aluminium ou d'argent, matrice à base de glycérol, etc.), la température et la présence de sels minéraux qui entraînent la formation d'ions pseudomoléculaires. Seule une faible proportion de particules émises sont des ions. Pour en augmenter le nombre, il est possible de préformer ces ions en introduisant dans la matrice liquide des acides tels que l'acide paratoluène sulfonique qui protone les groupements basiques. Les spectres SIMS présentent beaucoup d'analogie avec les spectres FAB mais ici les fragmentations seront plus nombreuses.

— **Ionisation par laser.** — L'ionisation laser est également une méthode par désorption de surface. Elle s'applique aux molécules organiques non volatiles, thermolabiles et de haute masse moléculaire d'intérêt pharmaceutique ou biologique (de 1 200 à 3 000 u.m.a.) nécessitant une ionisation douce.

L'échantillon noyé dans une matrice appropriée et déposé sur un support métallique est irradié par un faisceau laser dont les impulsions très brèves, de l'ordre de la nanoseconde ou même de la picoseconde, sont suffisantes pour provoquer la désorption et l'ionisation des molécules. Les ions sont ensuite analysés à l'aide de spectromètres à temps de vol ou à résonance cyclotronique (v. p. 218) capables par leur rapidité de produire un spectre de masse entier à partir d'une seule pulsation. La longueur d'onde du faisceau laser peut aller de l'ultraviolet à l'infrarouge, les lasers utilisés sont des lasers à dioxyde de carbone ou à colorants. Les spectres obtenus sont simples et généralement se réduisent au cation moléculaire $(M + K)^+$ si, par exemple, la matrice renferme des ions K^+ .

— **Ionisation dans une source à plasma par couplage inductif : ICPMS*.** — Ce procédé s'applique aux éléments inorganiques. Il couple une séparation par spectrométrie de masse et une ionisation par une torche à plasma. L'échantillon est introduit dans un flux d'argon porté à très haute température 6 000 à 10 000 °K se trouvant au centre d'une spire d'induction à laquelle est appliquée un courant de haute fréquence (v. p. 34). Le champ magnétique oscillant ainsi créé, accélère les électrons et facilite leurs collisions avec les atomes d'argon. Ce plasma est une source multiélémentaire en raison de la composition de l'échantillon. Par l'intermédiaire d'une interface, il pénètre dans un analyseur de type quadripolaire par exemple.

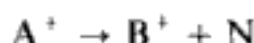
Cette technique présente un grand intérêt pour l'analyse élémentaire et isotopique des minéraux à l'état de traces dans des milieux complexes. Les seuils de détection se situent aux alentours de 10 à 100 pg . ml⁻¹ selon les éléments. Son pouvoir de résolution rend possible la détermination simultanée de plusieurs dizaines d'éléments. Elle est utilisée en toxicologie.

* ICPMS = Inductivity Coupled Plasma Mass Spectrometry.

● **Ions métastables.** — On désigne sous ce terme des ions d'énergie interne relativement faible dont les temps de vie moyens sont plus longs que celui des autres ions. Au lieu de se fragmenter dans la source d'ionisation, ils se fragmentent après avoir été accélérés, dans des régions sans champ entre la source et l'analyseur : entre le champ électrostatique précédant l'analyseur magnétique dans les appareils à haute résolution, ou, dans les appareils à géométrie inversée, entre les analyseurs magnétique et électrostatique.

Leur énergie cinétique est plus faible que celle des ions de même masse qui ont été accélérés. Ils apparaissent, dans certaines conditions opératoires, sous forme de petits pics diffus de faible intensité, étalés sur plusieurs unités de masse et centrés sur une valeur correspondant à masse apparente $m^* = \frac{m_2^2}{m_1}$.

Prenons comme exemple, un ion A^+ de masse m_1 . S'il se fragmente dans la source en un ion B^+ de masse m_2 et en un fragment neutre N,



L'ion A^+ et l'ion B^+ , après accélération par le champ électrique de potentiel V, ont une énergie égale à zV .

L'ion fragment B^+ apparaît sur le spectre à la valeur $\frac{m_2}{z}$ qui satisfait aux égalités (voir p. 202) :

$$zV = \frac{1}{2} m_2 v^2 \quad (1)$$

$$\frac{m_2}{z} = \frac{B^2 r^2}{2V} \quad \text{d'où} \quad r = \sqrt{\frac{2Vm_2}{B^2 z}} \quad (3)$$

Si l'ion A^+ ne se fragmente qu'après avoir été accéléré, l'énergie cinétique de l'ion B^+ ne pourra être qu'une fraction de l'énergie cinétique de l'ion A^+ . Cette énergie, en effet, se partage entre l'ion B^+ et l'atome neutre N. L'ion métastable B^+ a la même masse que l'ion B^+ normal qui a pris naissance dans la source mais avec une énergie cinétique moindre dont la valeur est la fraction m_2/m_1 de l'énergie initiale :

$$zV \frac{m_2}{m_1} = \frac{1}{2} m_2 v^2$$

Le rayon de la trajectoire circulaire que prend, sous l'action d'un champ magnétique, cet ion métastable B^+ est alors d'après (3), (v. p. 202) :

$$r = \sqrt{\frac{2Vm_2}{B^2 z m_1}}$$

On en déduit que le pic correspondant apparaît pour une valeur qui correspond non à sa masse réelle m_2 mais à la masse apparente m^* ,

$$m^* = \frac{m_2^2}{m_1} = \frac{B^2 r^2}{2V} z$$

Applications. — Sur les appareils ordinaires à quadripole ou magnétique à simple focalisation, les spectres des ions métastables ne sont en général pas observés. Par contre, leur formation peut être favorisée en mettant en œuvre des procédés qui prolongent les temps de séjours des ions dans la source ou qui favorisent leur fragmentation par collision dans des régions sans champ, ce qui est le cas avec les systèmes à double analyseur magnétique et électrostatique.

Ces ions sont très utiles pour déterminer les schémas de fragmentation : pour avoir la certitude qu'un ion de masse m_1 se décompose pour donner un ion de masse m_2 , on peut provoquer la formation d'un ion métastable qui, si m_2 provient de m_1 , doit donner un pic d'ions métastables à la masse apparente m^* .

ANALYSEURS

Les dispositifs mis en œuvre pour trier les différents fragments, appelés parfois filtres de masse, font appel à des procédés physiques mettant en évidence un comportement différent des ions en fonction du rapport m/z : déflexion magnétique, oscillation dans un champ de radiofréquence variable vitesse, énergie cinétique ou résonance cyclotronique.

Caractéristiques

Les analyseurs sont caractérisés par un certain nombre de propriétés qui justifient leur emploi en fonction des objectifs recherchés :

- **Gamme ou domaine de masse.** — C'est l'étendue de masses exprimée en unités de masse atomique (u.m.a.*) ou en daltons**, qu'un appareil est susceptible d'enregistrer correctement.

- **Pouvoir de résolution (PR).** — Il exprime la capacité que possède un analyseur de distinguer les enregistrements correspondant aux faisceaux ioniques de deux fragments de masses voisines M et $M + \Delta M$. C'est une grandeur sans dimension.

On distingue les analyseurs à basse résolution ($PR < 300$), à moyenne résolution ($300 < PR < 10\,000$) et à haute résolution ($PR < 15\,000$). Actuellement, il existe des analyseurs magnétiques qui peuvent atteindre des pouvoirs de résolution de 10^5 et des analyseurs à résonance cyclotronique avec des PR de 10^8 .

* L'u.m.a. est égale au 1/12 de la masse de l'isotope 12 du carbone.

** Le dalton est la masse de l'atome d'hydrogène = 1,007 825 u.m.a.

Sur les spectrogrammes, chaque faisceau ionique correspond à un rapport m/z déterminé et est représenté par une barre verticale. En fait, les formes réelles des faisceaux ioniques sont gaussiennes et leur examen permet différentes déterminations pratiques du pouvoir de résolution. Deux expressions de ce paramètre sont principalement utilisés (fig. 91) :

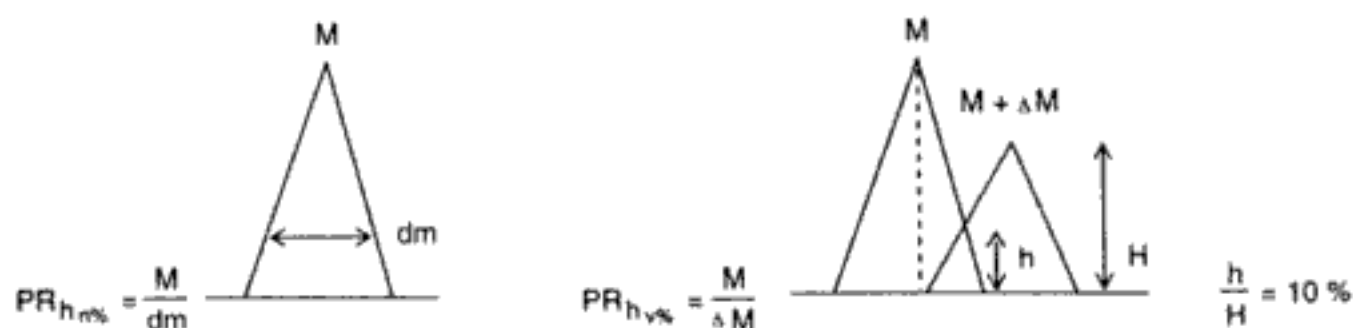


FIG. 91.

Pouvoir de résolution exprimé en fonction de la largeur du faisceau ionique correspondant à la masse M , mesurée à un certain pourcentage de sa hauteur

$$PR_{h_n\%} = \frac{M}{dm}$$

dm : largeur exprimée en unités de masse du faisceau d'ions m/z , mesurée à un certain pourcentage de la hauteur de ce faisceau, en général $n = 50\%$.

Pouvoir de résolution exprimé à « $n_v\%$ de vallée $PR_{n_v\%}$ »

$$PR_{n_v\%} = \frac{M}{\Delta M}$$

C'est le rapport entre la masse du pic M et la différence de masse ΔM du pic $M + \Delta M$ dont le recouvrement avec le pic M a une hauteur de vallée déterminée à $n_v\%$. n_v exprime le rapport en pourcentage de la hauteur de la vallée à la hauteur du plus petit des deux pics (en général, $n_v = 10\%$).

EXEMPLE. — Si un analyseur a un pouvoir de résolution de 300, cela signifie que l'on peut distinguer le pic $M(300)$ et le pic $M + \Delta M(301)$, un pouvoir de résolution de 30 000 permet de distinguer le pic 300 du pic 300,01.

● **Vitesse de balayage.** — C'est le nombre de balayages par seconde nécessaires pour qu'apparaissent tous les pics relatifs au domaine de masse considéré. Cette vitesse peut être exprimée en spectres par seconde ou en décades par seconde, une décade correspond à une variation des masses d'une puissance de 10, par exemple, de 5 à 50, de 50 à 500 ou de 500 à 5 000.

Vitesse de balayage et résolution évoluent souvent en sens inverse pour les analyseurs à très forte résolution, les balayages sont effectués avec des vitesses lentes (10-30 s . décade⁻¹). Pour les appareils moins performants, les temps

de balayage sont plus rapides ($0,1 \text{ s} \cdot \text{décade}^{-1}$); ils conviennent au couplage avec les procédés chromatographiques. Certains analyseurs ont des vitesses de balayage constante sur tout le domaine de masse considéré (analyseur à moyenne résolution) alors que les balayages peuvent varier de manière exponentielle dans les appareils à forte résolution : balayage lent pour les masses faibles, et plus rapide pour les masses élevées.

Différents types d'analyseurs

● **Analyseur à champ magnétique.** — On distingue les appareils à basse résolution qui sont des appareils à simple focalisation comme celui décrit ci-dessus et les appareils à haute résolution qui sont des appareils à double focalisation.

En effet, en plus de la divergence angulaire provoquée par le champ magnétique et variable selon les ions, une divergence d'énergie cinétique peut également exister même pour des ions de rapport m/z semblables. Celle-ci résulte de leur position dans la chambre d'ionisation au moment de leur formation. Tous ces ions de nature identique n'arrivent donc pas à la même vitesse dans le champ magnétique.

Les analyseurs se caractérisent par une importante gamme de masse pouvant atteindre 3 500 u.m.a. et des pouvoirs de résolution élevés (PR : 10 000 à 150 000 à 10 % de vallée). Leur vitesse de balayage plus lente que dans les autres analyseurs peut être asservie au domaine de masse considéré.

● **Analyseur à quadripole.** — Le quadripole est constitué par quatre barres métalliques cylindriques ou demi-cylindriques, parallèles, disposées aux quatre angles d'un carré. Une tension ayant une composante continue U et une composante alternative V (radiofréquence) est appliquée; les électrodes adjacentes sont portées à des potentiels opposés, les électrodes opposées sont aux mêmes potentiels (fig. 92).

A l'intérieur du quadripole, il se crée un champ électrodynamique. Pour une radiofréquence donnée, un ion oscillera entre les électrodes adjacentes de polarité opposée et suivra un parcours bien déterminé, les autres ions sortiront du champ. Il ne s'exerce aucune force longitudinale de telle sorte qu'un ion poursuivra son trajet avec une vitesse constante.

On fait varier, de manière linéaire, les tensions continues et alternatives appliquées aux électrodes en maintenant leur rapport constant. Cette variation permet de séparer les ions en fonction de leur masse et de leur charge :

$$m/z = f(U \cdot V)$$

Ce système est caractérisé par une très grande rapidité de balayage ($0,1 \text{ s} \cdot \text{décade}^{-1}$ de 40 à 400 u.m.a.) ainsi que par sa capacité de supporter des pressions plus élevées que les analyseurs magnétiques. Chaque région du spectre peut ainsi être étudiée sans modification du calibrage et du balayage. Ceci rend cet analyseur particulièrement adapté aux couplages chromatographiques, aux ionisations chimiques et aux dosages fragmentométriques.

Son domaine de masse est linéaire et, pour les appareils courants, se situe entre 30 et 600 u.m.a. Des dispositifs récents permettent cependant d'atteindre 2000 u.m.a.

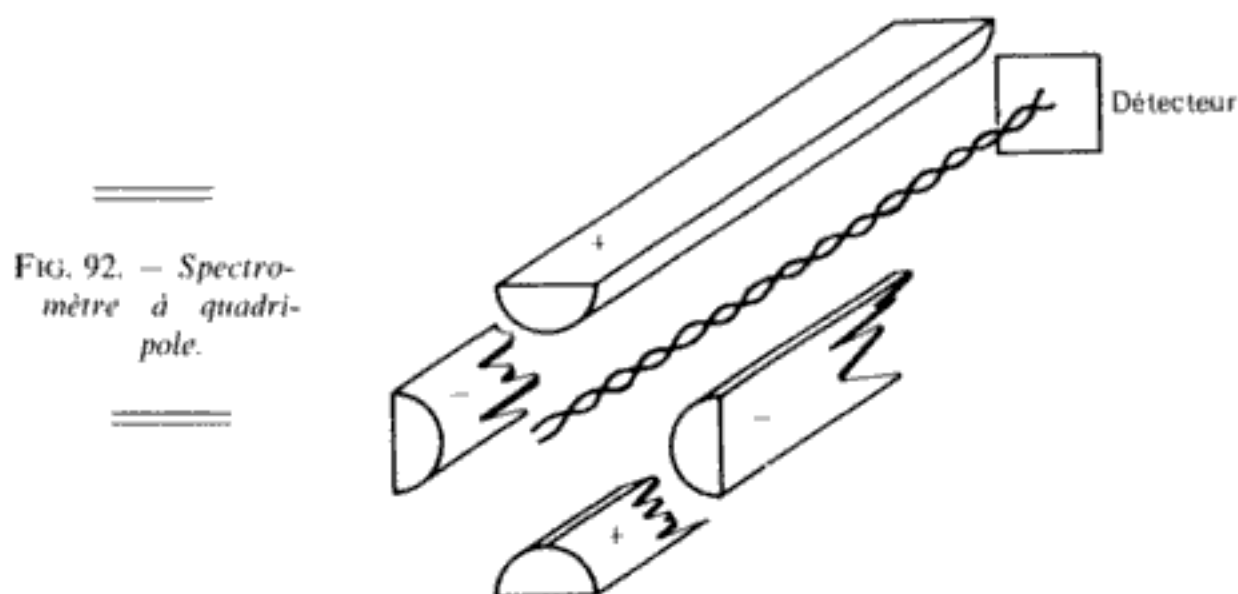


FIG. 92. — Spectromètre à quadri-pole.

● **Spectromètre de masse dit à « temps de vol ».** — Son principe est différent car il est fondé sur le rapport qui existe entre la vitesse d'un ion et sa masse. Il repose seulement sur l'équation (1). Tous les ions reçoivent la même énergie pendant l'accélération mais puisque leur masse est différente, ils n'ont pas la même vitesse.

Les ions formés par un faisceau d'électrons sont éjectés de la chambre à ionisation par le repulseur auquel on applique une différence de potentiel intermittente. Les ions sont ensuite accélérés et entrent dans une région où ne s'exerce aucun champ. Ils poursuivent donc leur trajet avec une vitesse constante qui dépend seulement de leur masse et de l'accélération qui leur a été communiquée. Pendant le trajet les différents ions se séparent; les plus lourds arrivent au collecteur les derniers. L'arrivée de chaque paquet d'ions est liée à la fréquence imprimée au repulseur (fig. 93).

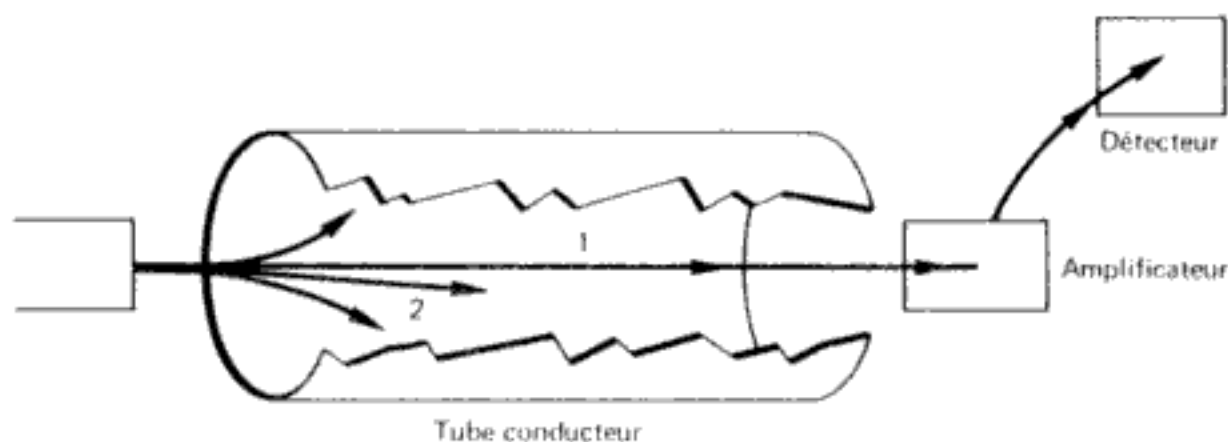


FIG. 93. — Spectromètre à « temps de vol ».

EXEMPLE : Pour un voltage de 2000 volts et un trajet de 1 m, un ion hydrogène a un temps de vol de 1,7 μ s. Un ion de masse 25 000, un temps de 50 μ s.

Le temps de réponse très rapide rend ce type d'appareil apte au couplage chromatographique et à la fragmentométrie ainsi qu'à l'étude des composés à masses moléculaires élevées car il n'y a pas de limitation théorique au domaine de masse exploré.

• *Analyseurs par piégeage d'ions et résonance cycloélectronique.* — Les ions formés s'accumulent dans la chambre d'ionisation où s'exercent des forces magnétiques ou électrostatiques et sont accélérés. En fonction de la variation de ces forces pour un rapport m/z déterminé, ces ions excités sont éjectés et collectés par un système de détection dont le signal est proportionnel à l'intensité des faisceaux ioniques.

Analyseur par piégeage d'ions (ITD : Ion Trap Detector). — Trois électrodes dont la surface interne correspond à un hyperboloïde, sont superposées dans la chambre d'ionisation. L'une est annulaire et centrale, les deux autres constituent respectivement la paroi supérieure et inférieure de la chambre.

Un potentiel alternatif de fréquence fixe correspondant à une radiofréquence et dont l'amplitude est variable à la demande, est appliqué à l'électrode centrale annulaire tandis que les électrodes supérieure et inférieure sont reliées à la masse.

Les ions formés par bombardement électronique ou par ionisation chimique sont piégés dans le champ ainsi créé et maintenus en résonance cyclotronique.

Lorsque l'amplitude de variation du potentiel est augmentée, les ions acquièrent un état d'instabilité. Leur amplitude d'oscillation, dans la direction axiale, s'accroît jusqu'au moment où ils sont éjectés de ce piège de façon séquentielle en fonction des rapports m/z en allant des basses masses aux masses les plus élevées. Ils sont ensuite collectés par le système de détection.

Pour que ce système soit efficace, il faut optimiser le débit chromatographique, le temps d'ionisation et la vitesse de balayage en amplitude. Le choix de la séquence de balayage permet un piégeage sélectif des ions en évitant toute interférence avec les ions des gaz réactifs utilisés en ionisation chimique.

De résolution moyenne, couvrant un domaine de masse de 30 à 650 u.m.a., cet analyseur se prête aux identifications simples et aux dosages par fragmentométrie.

Analyseur par résonance cyclotronique ionique et transformée de Fourier. — Après l'ionisation qui a parfois lieu dans la chambre d'analyse elle-même, les ions sont soumis à une induction magnétique B très élevée, fixe et uniforme ainsi qu'à un faible champ électrique constant. Ils sont entraînés sur des orbites circulaires avec une vitesse angulaire ω fonction de l'induction magnétique, de leur masse et de leur charge :

$$\omega_i = \frac{z}{m} B$$

Ces ions évoluent sur ces trajectoires stables pendant des périodes de temps pouvant atteindre plusieurs millisecondes. Pour un champ magnétique donné, la mesure de la fréquence peut donc conduire à la détermination de m/z .

Le tri des ions s'effectue en superposant orthogonalement aux champs magnétique et électrique précédents un champ de radiofréquence de balayage très rapide.

Lorsqu'il y a résonance entre la radiofréquence appliquée ν_A et la fréquence propre de l'ion ν_1 ($\nu_1 = \frac{\omega}{2\pi}$), les ions quittent leurs orbites initiales et sont propulsés de façon cohérente sur des trajectoires en spirales. Dès que le champ électrique de radiofréquence cesse, l'ion décrit une orbite circulaire de même fréquence mais de rayon plus grand. Ce mouvement circulaire induit, pour chaque ion, des courants sinusoïdaux décroissants qui sont recueillis, amplifiés et stockés en mémoire. Le signal produit par l'ensemble des ions excités correspond à autant de courants images qu'il y a d'espèces ioniques. Un traitement par transformée de Fourier produit un spectre de fréquence équivalent à un spectre de masse. L'amplitude de chaque raie est proportionnelle au nombre d'ions qui lui ont donné naissance.

Cet analyseur est caractérisé par son très grand pouvoir de résolution (10^5 pour des composés de 1 000 u.m.a.). Le traitement du signal par transformée de Fourier en accumulant les signaux produits par des ions en faible quantité permet d'atteindre des domaines de masses supérieures à 10 000 daltons.

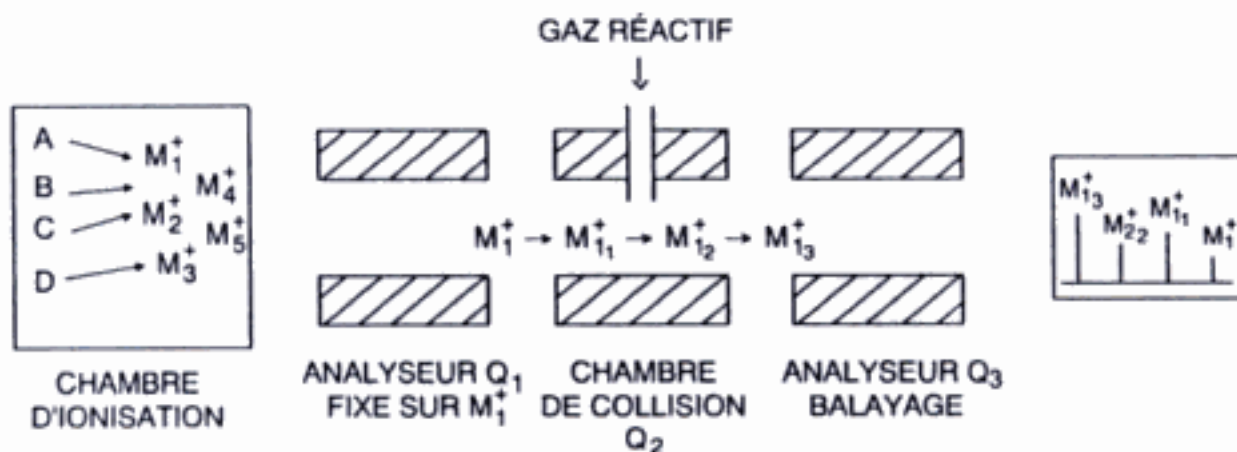
La production d'ions à longue durée de vie est mise à profit pour l'étude des mécanismes de la réactivité des molécules.

● **Analyseurs couplés : Spectrométrie de masse-masse ou spectromètre de masse en tandem.** — Deux analyseurs, séparés par une chambre intermédiaire dite chambre de collision, sont disposés l'un à la suite de l'autre. Après ionisation d'un mélange, il est possible d'isoler, à l'aide du premier analyseur, un ion ou un fragment déterminé et d'étudier, à l'aide du second, sa fragmentation dans la chambre intermédiaire. Cette fragmentation peut être *spontanée* (ions métastables), ou *provoquée* par collision, si l'on introduit, dans cette chambre intermédiaire, un gaz inerte sous une pression soigneusement contrôlée. Les analyseurs quadripolaires ou magnétiques sont les plus utilisés.

Analyseurs quadripolaires en série (fig. 94). — Deux analyseurs quadripolaires, Q_1 et Q_3 , sont séparés par un troisième quadripole Q_2 , soumis uniquement à un potentiel de radiofréquence fixe, qui n'a donc aucune fonction d'analyseur. Il sert de chambre intermédiaire dans laquelle une pression relativement élevée favorise la collision des ions. Ce quadripole ne fait que provoquer des oscillations ioniques et communique aux ions une vitesse linéaire qui améliore le rendement des collisions.

Analyseurs à champ magnétique et électrostatique. — Selon la disposition des analyseurs l'un par rapport à l'autre, on distingue les appareils à géométrie normale où le premier analyseur est à champ électrostatique et le second à champ magnétique et les appareils dits à géométrie inversée où le premier

analyseur est à champ magnétique et le second à champ électrostatique. La variation du champ électrostatique, dans ce cas, permet la séparation des ions en fonction de leur énergie cinétique donnant des spectres MIKE (Mass Analysed Ion Kinetic Energy).



Spectrométrie de masse-masse : représentation schématique

FIG. 94. — Spectrométrie de masse : représentation schématique.

Plusieurs modes d'utilisation peuvent être envisagés et adaptés à des applications diverses :

- *Mode descendant* : le premier analyseur ne filtre qu'un ion, le second analyseur établit un spectre de masse par balayage (identification et dosage d'un composé dans un mélange).
- *Mode ascendant* : le premier analyseur balaie la totalité des ions formés dans la source d'ionisation, le deuxième analyseur est fixé sur un ion (recherche de filiation).
- *Mode combiné* : les deux analyseurs balaient simultanément les ions formés.

COUPLAGES CHROMATOGRAPHIE SPECTROMÉTRIE DE MASSE

L'identification d'un composé par spectrométrie de masse n'est possible que si celui-ci est extrêmement pur. L'analyse de mélanges par cette méthode impliquait avant son couplage avec la chromatographie gazeuse ou liquide des travaux de séparation et de purification très laborieux.

Ils ont pu être en partie supprimés en disposant le spectromètre de masse à l'extrémité d'une colonne chromatographique et en analysant chaque fraction au fur et à mesure de son élution. L'identification et éventuellement le dosage de très faibles quantités de substances dans des mélanges complexes deviennent alors possibles et trouvent de très larges applications dans les domaines de la biochimie et de l'analyse des substances d'origine naturelles ainsi que dans l'étude du métabolisme des médicaments.

Les couplages se heurtent à un certain nombre de difficultés dues :

- aux quantités minimales de substances se trouvant dans le flux chromatographique;
- aux différences de pressions existant entre les chromatographes et le spectromètre;
- à la présence de l'éluant;
- à l'harmonisation du temps d'émergence du pic chromatographique avec l'enregistrement des spectres de masse. En effet, la vitesse d'enregistrement des spectres est primordiale car la quantité de composé pénétrant dans la source changeant constamment pendant l'émergence du pic chromatographique, il est nécessaire pour obtenir des résultats reproductibles, d'enregistrer, de manière répétitive le maximum de spectres, de part et d'autre du sommet du pic.

Dans les procédés à balayage répétitif, l'analyseur balaie plusieurs centaines d'unités de masse à une cadence telle qu'une dizaine de spectres sont établis par seconde.

Ce balayage répétitif s'effectue tout au long de l'élution et les pics chromatographiques sont restitués à partir du courant total des ions collectés au cours de chaque balayage (chromatogramme de masse) ou à partir des courants ioniques correspondant à des ions particuliers (fragmentogramme). L'intensité de la réponse dépend du nombre d'acquisitions puisque le courant obtenu est la somme des courants mémorisés. Il est donc nécessaire de disposer d'analyseurs à balayage rapide (temps de vol, quadripolaire ou piégeage d'ions).

● *Couplage chromatographie gazeuse — spectrométrie de masse.* — Des opérations préliminaires permettent de définir les conditions chromatographiques, mais la transposition d'une séparation, effectuée sur un simple chromatographe, à l'appareil couplé, demande souvent de modifier les paramètres opératoires.

La phase stationnaire doit obligatoirement présenter une très basse volatilité et une grande stabilité thermique afin d'éviter toute distillation, même minime, qui perturberait les tracés spectrométriques.

Le gaz inerte chimiquement pour ne pas interférer sur les tracés doit être éliminé facilement.

L'hélium et l'hydrogène remplissent ces conditions. En revanche, l'azote qui donne des pics aux masses 28 et 29, ne peut être utilisé.

La différence de pression entre la sortie de la colonne chromatographique et le spectromètre de masse est particulièrement importante lorsque l'on utilise des colonnes remplies. Elle doit être atténuée par l'interposition entre les deux appareils de séparateurs qui ont pour fonction de réduire la pression de l'éluat gazeux et d'enrichir la vapeur en composés à analyser, par élimination de la plus grande partie du gaz vecteur.

L'utilisation des colonnes capillaires à faible débit qui tend à se généraliser, permet actuellement l'arrivée directe, sans interface, de l'éluat dans le spectromètre de masse.

Les procédés d'injection sont les mêmes que ceux indiqués en colonnes remplies ou capillaires (Tome II p. 209 et 234).

● **Couplage chromatographie liquide — Spectrométrie de masse.** — Alors qu'il est nécessaire lors du couplage chromatographie gazeuse — spectrométrie de masse que les substances soient thermostables et volatilisables, le couplage avec la chromatographie liquide s'adresse non seulement à ces composés mais également aux molécules polaires ou thermolabiles sans obligatoirement être obligé d'en effectuer la dérivation. Ce procédé est ainsi particulièrement adapté aux molécules biologiques comme les nucléosides, nucléotides, peptides et oligosaccharides ou aux molécules médicamenteuses comme les antibiotiques.

Le problème essentiel de ce couplage tient à la phase mobile liquide qu'il faut faire pénétrer dans le spectromètre, éliminer en grande partie et dont la présence modifie la pression dans la source d'ionisation.

De composition variable, elle est plus difficile à éliminer qu'un gaz surtout lorsqu'elle renferme un certain pourcentage d'eau.

La plupart des systèmes actuellement utilisés, après division de l'éluant ou élimination préalable de la plus grande partie de la phase mobile par un pompage approprié, font participer la fraction restante à l'ionisation des solutés. Il s'agit donc d'une ionisation chimique (v. p. 208) dans laquelle le solvant volatilisé joue un rôle analogue à celui du gaz réactif. Ce procédé permet de tolérer dans la source d'ionisation des pressions plus élevées que lors de l'ionisation par impact électronique et prend en compte les contraintes de la chromatographie liquide. Un compromis reste à trouver entre le débit de la phase mobile, sa nébulisation et l'élimination de son excès afin de maintenir la pression à l'intérieur de la source à une valeur compatible avec l'ionisation.

Plusieurs systèmes peuvent être combinés : division de l'effluent, réduction des débits (10 à 150 $\mu\text{l} \cdot \text{mn}^{-1}$ pour des colonnes de 2 mm), utilisation de microcolonnes (5 à 10 $\mu\text{l} \cdot \text{mn}^{-1}$), pompage cryogénique à l'azote liquide, nébulisation par pression à travers des trémies ou des diaphragmes, évaporation et formation de jets gazeux.

Deux systèmes actuellement utilisés illustrent ces possibilités :

Système à diaphragme. — L'extrémité de la colonne est reliée à une sonde. L'embout est constitué par un diaphragme percé d'un trou central de 5 μm . Une vanne aiguille permet d'obtenir la pression de 1 à 3 bars nécessaires à la formation d'un jet qui, à la sortie de cette sonde, se fragmente en minuscules gouttelettes. Elles pénètrent dans une chambre de désolvatation, reliée à un pompage cryogénique très puissant (lyophilisation), puis dans la chambre d'ionisation. Les molécules de solvants ionisées par impact électronique jouent alors le rôle de réactifs et ionisent les solutions. Cette technique tolère des éluants dont la teneur en eau peut atteindre 85 %.

Systèmes à jet gazeux (thermospray). — L'extrémité de la colonne est mise en relation avec un tube capillaire métallique dont la température est augmentée progressivement sur sa longueur par la programmation d'un

thermocouple. Il se forme un jet gazeux, fin brouillard constitué de gouttelettes de solvant et de particules des solutés qui sont complètement volatilisées, lorsqu'elles pénètrent dans la chambre d'accélération (source). Un pompage auxiliaire situé à l'opposé du capillaire permet d'éliminer l'excès du solvant et d'utiliser, de ce fait, des débits voisins de $1 \text{ à } 2 \text{ ml} \cdot \text{mn}^{-1}$.

L'ionisation des molécules s'effectue généralement dans le capillaire même car, lorsque le solvant s'évapore, la densité des charges électriques autour des particules de solutés augmente. Ce fait est favorisé par la présence d'ions NH_4^+ dans la phase mobile. Ils forment avec les solutés des associations ou « clusters » dont la taille diminue au fur et à mesure de la progression dans le capillaire (fig. 95). Cette ionisation est très douce. Elle ne nécessite pas d'autre source d'énergie que l'échange de protons. On obtient des courants ioniques d'ions positifs et négatifs qui peuvent avoir une grande intensité.

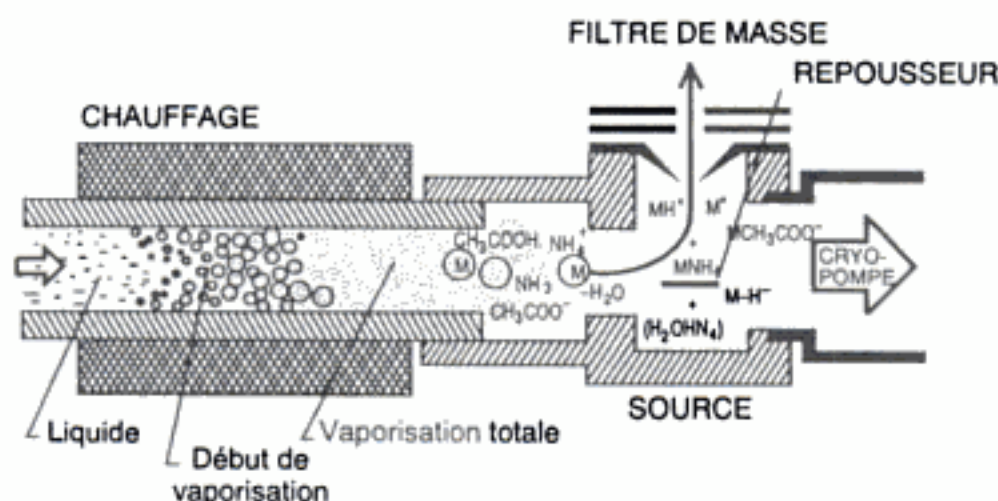
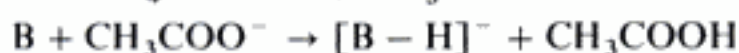
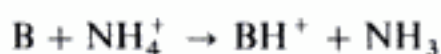


FIG. 95. — Couplage C.L.H.P./Spectrométrie de masse par Thermospray (Th. BECUE).

En polarité de phases inversée, on considère qu'il est nécessaire que la phase mobile contienne au moins 10 % d'eau pour ioniser les sels. En général, on utilise de l'acétate d'ammonium à une concentration comprise entre 0,001 M et 0,01 M.

Si l'éluant ne renferme pas d'ions NH_4^+ , il est nécessaire de faire un ajout post-colonne.

Les quantités de solutés injectés sont de l'ordre du microgramme, la limite de détection est voisine du nanogramme.

APPLICATIONS DE LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Identification d'une molécule

Dans des conditions opératoires identiques chaque molécule possède son propre spectre de masse. Il est par conséquent aisé de comparer le spectre obtenu d'un échantillon inconnu soit avec les données de la littérature soit

avec celui d'une molécule de référence à laquelle on a de fortes raisons de penser qu'il puisse être assimilé.

Les différents isomères peuvent donner des spectres voisins, mais il est extrêmement rare que leurs spectres soient rigoureusement identiques sauf dans la cas des isomères optiques que l'on peut cependant différencier par leur temps de rétention sur colonnes chromatographiques appropriées.

Les spectres de masse obtenus par ionisation par impact d'électrons donnant les fragmentations les plus abondantes permettent d'obtenir les informations les plus précises.

Détermination de la masse moléculaire

Comme dans l'exemple du méthanol, l'ion moléculaire, tout en n'étant pas obligatoirement le plus abondant dans les spectres de masse obtenus par impact d'électrons, est représenté par le pic correspondant au rapport m/z le plus élevé. On peut donc déterminer avec exactitude la place de ce premier pic et connaître très précisément la masse du composé.

Ce pic est souvent entouré de pics plus faibles correspondant aux contributions isotopiques ($M + 1$, $M + 2$, ...) mais l'habitude et la bonne connaissance de ces contributions permettent en général d'éliminer toute incertitude. Plus facilement identifiable sur les spectres obtenus par ionisation chimique, en FAB ou en SIMS, le pic moléculaire est souvent très réduit et parfois absent des spectres obtenus par impact d'électrons. Seul, l'examen approfondi des différents fragments permettra alors de déduire sa position.

Établissement de la formule brute

Un composé chimiquement pur donne, généralement, en fait, un mélange de spectres de masse, car les éléments qui le composent sont en réalité constitués par un mélange d'isotopes.

Exemple : le spectre de CO_2 est un mélange de spectres.



L'abondance des isotopes naturels est bien connue et donnée dans des tables : c'est ainsi par exemple que, à côté du C^{12} , se trouve 1,08 % de C^{13} , à côté de O^{16} 0,2 % de O^{18} . Pour certains halogènes cette participation est encore plus importante puisque à côté de Cl^{35} , on trouve 33 % de Cl^{37} , à côté du Br^{79} , 97,5 % Br^{81} .

Les spectres seront donc compliqués par la présence d'amas isotopiques, mais leur abondance et leur localisation à $M^+ + 1$ ou $M^+ + 2$ ou $M^+ + 3$ permet de déterminer la formule brute des divers ions à condition de disposer de spectromètres suffisamment sensibles.

Établissement de la structure moléculaire

La structure des molécules peut souvent, avec de grandes chances de certitude, être déduite des spectres de masse.

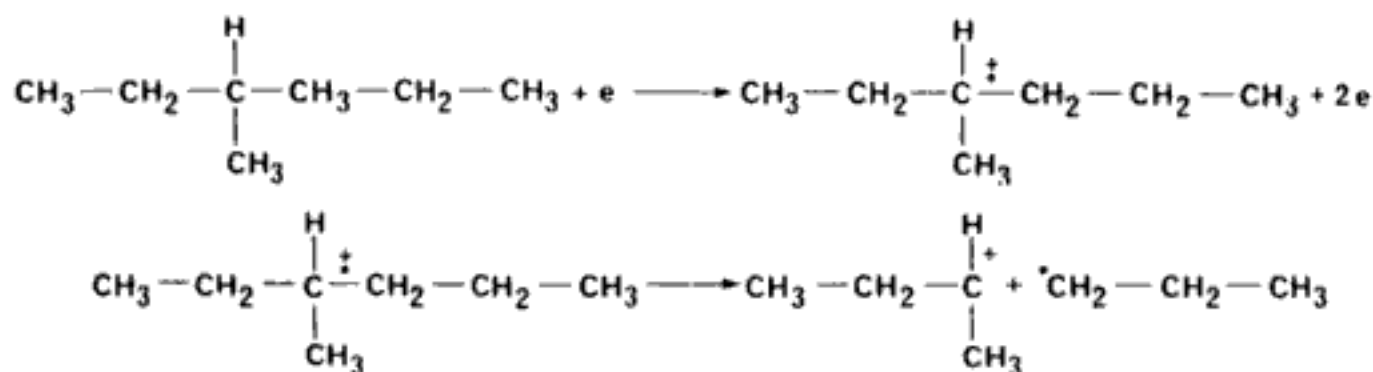
En effet, la position de chaque pic qui provient, sauf dans les cas de certains réarrangements, de la fragmentation d'un ion précédent de masse plus élevée, permet d'obtenir des renseignements sur la structure de cet ion.

C'est ainsi que la présence d'un pic à $(M - 15)^+$ indique que le fragment considéré provient d'un ion M^+ qui a perdu selon toute vraisemblance un groupe méthyle latéral ($CH_3^+ = 15$), à $(M - 18)^+$ perte d'une molécule d'eau ou à $(M - 1)^M$ perte d'un hydrogène.

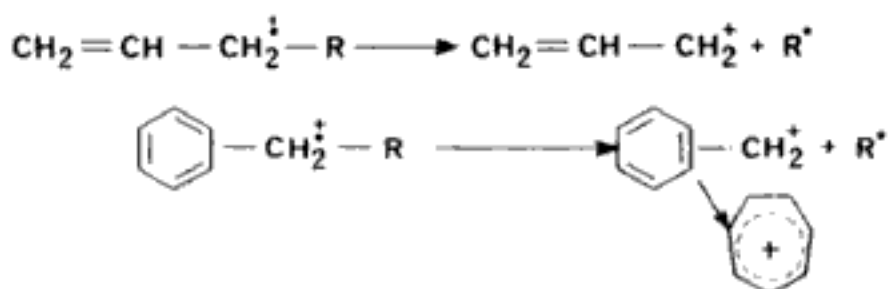
Il ne saurait être question ici de donner les nombreuses règles relativement complexes qui sont développées dans des ouvrages spécialisés, mais plutôt de montrer à l'aide de quelques exemples comment il est possible d'interpréter la présence de certains pics.

De manière générale, la fragmentation ou les différents réarrangements qui vont prendre naissance après la formation de l'ion moléculaire vont toujours tendre à faire apparaître des ions ou radicaux plus stables que l'ion ou le radical dont il sont issus.

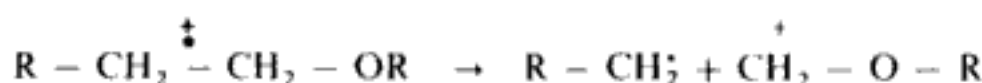
• **Fragmentation.** — Lors de la formation de l'ion moléculaire, c'est en général, un électron de la liaison la plus polarisable qui est éliminé. La rupture des liaisons se fait ensuite préférentiellement au niveau des carbones les plus substitués : le fragment ionique est formé par le fragment constitué par le carbocation le plus stable. C'est ainsi que dans l'exemple suivant, c'est le carbocation tertiaire.



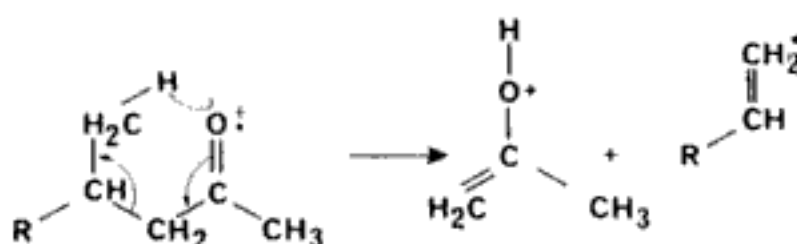
Les doubles liaisons favorisent certaines coupures. Les doubles liaisons des chaînes linéaires privilégient les coupures de type allylique, tandis que celles des cycles aromatiques entraînent des coupures en $\alpha - \beta$ des cycles permettant ainsi d'obtenir des cations allyliques, benzyliques ou tropylium plus stables.



— Les liaisons situées en $\alpha - \beta$ d'un hétéroatome se rompent en laissant la charge sur le fragment contenant l'hétéroatome.



• **Réarrangement.** — Lorsque les espèces fournies sont instables et qu'elles possèdent un hétéroatome, il peut se produire un réarrangement intramoléculaire. Il implique la migration d'un atome d'hydrogène placé en γ du carbone portant l'hétéroatome et la formation d'un état transitoire cyclique suivie de la rupture de la liaison placée en β . C'est souvent le cas des molécules possédant un groupement $\text{C}=\text{O}$ (carbonylées ou carboxylées). Il porte en ce cas le nom de réarrangement de Mac Lafferty.



• **Association.** — Plus rares sont les cas d'association de plusieurs fragments. Elles peuvent se former cependant comme dans une réaction de Diels Alder lorsque des fragments diéthyléniques et éthyléniques sont en présence, donnant alors naissance à des composés cycliques stables.

• **Filiation des ions.** — Il est possible, en appliquant des règles simples, et avec un peu d'expérience, lorsqu'un composé est bien isolé d'établir des schémas de fragmentation. Ceci est plus difficile à obtenir lorsqu'il s'agit de mélanges mal résolus. La mise en évidence d'ions métastables peut être une aide précieuse (p. 213) mais la filiation des ions peut être effectuée également par spectrométrie de masse-masse utilisée en mode ascendant (fig. 96).

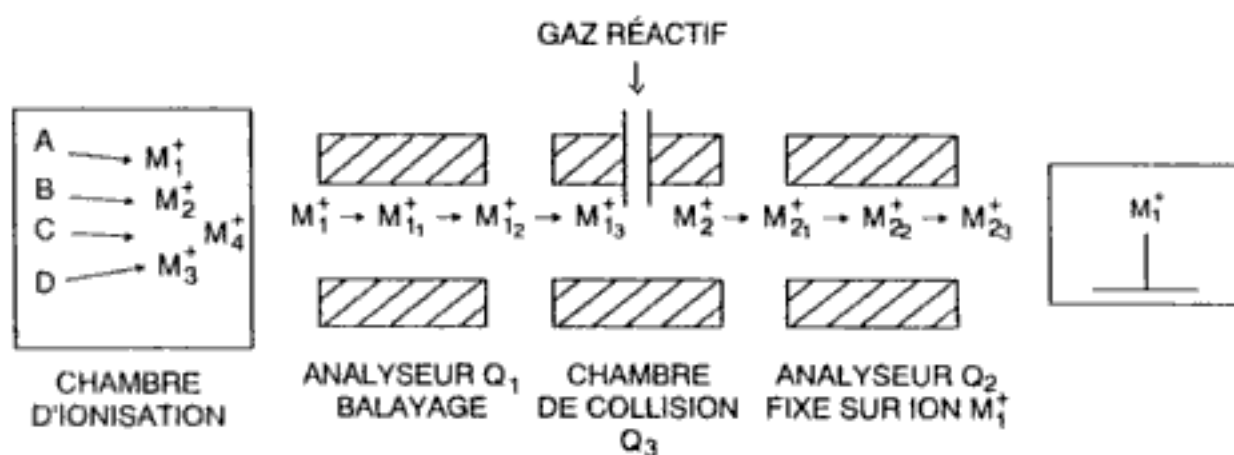


FIG. 96. — Recherche de filiation d'un ion : SM-SM (mode ascendant).

Soit un mélange de molécules ABCD, après ionisation, le premier analyseur balaie toute la gamme de masse, les ions formés pénètrent en fonction de leur rapport m/z dans la chambre intermédiaire où ils sont fragmentés. Le deuxième analyseur est réglé de façon à ne laisser passer que l'ion, M_1 par exemple, dont on recherche la filiation. Il est facile en fonction du balayage du premier analyseur de trouver l'ion m/z qui a pu lui donner naissance.

Recherche sélective des composés

● **Fragmentométrie SM—SM.** — La recherche des composés dans un mélange peut être faite après isolement chromatographique et examen du spectre du composé. Mais cette recherche peut être affinée et simplifiée, si l'on impose à l'analyseur de ne filtrer qu'un ou plusieurs fragments spécifiques du composé. Il s'agit d'une identification par fragmentométrie et la limite de détection peut être de l'ordre du picogramme.

● **La spectrométrie de masse-masse.** — Il est également possible d'identifier directement, sans séparation préalable, un composé en utilisant la spectrométrie de masse-masse en « mode descendant », dans ce cas, le premier analyseur ne laisse pénétrer dans la chambre de collision qu'un ion majoritaire considéré comme caractéristique du composé recherché. Après sa fragmentation par collision, le deuxième analyseur par balayage donne le spectre des fragments ainsi formés. La similitude de cette fragmentation avec celle d'un spectre de référence prouve la présence du composé qui peut éventuellement être dosé par fragmentométrie.

Exemple : soit un mélange complexe ABCD, si l'on veut s'assurer de la présence de la molécule A dont on sait qu'elle donne un fragment caractéristique M_1 , le mélange n'étant pas séparé, on ne peut se baser sur la seule présence du fragment M_1 . Des fragments de même masse et de même charge peuvent en effet provenir également des autres molécules BCD. Par contre, si l'on montre que cet ion donne la suite attendue $M_1^+ \rightarrow M_2^+ \rightarrow M_3^+ \rightarrow M_4^+$ caractéristique de A, on peut, avec une grande certitude, affirmer la présence de A.

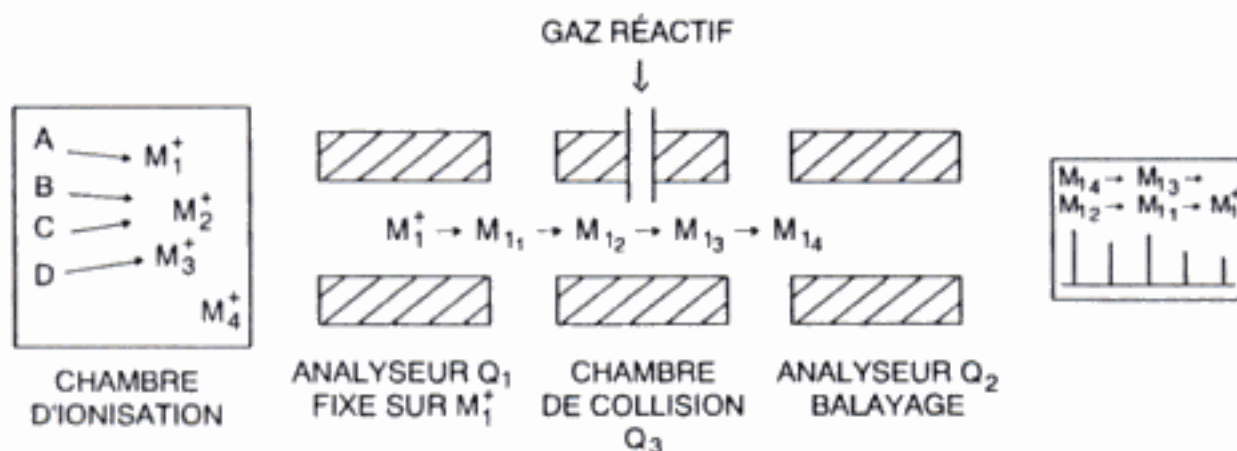


FIG. 97. — Recherche sélective d'un composé : SM-SM (mode descendant).

Analyse quantitative

La détermination quantitative des composés par spectrométrie de masse peut s'effectuer directement à partir des échantillons en utilisant des procédés d'ionisation comme le FAB ou d'isolement comme la SM-SM et en mettant en œuvre un étalonnage préalable. Ces techniques restent actuellement réservées à des laboratoires spécialisés.

Beaucoup plus courantes sont les méthodes faisant appel aux couplages chromatographiques. Elles reposent sur le fait que l'abondance absolue de chaque ion, dans des circonstances opératoires rigoureusement déterminées, est fonction de la quantité de substance introduite, après séparation chromatographique, dans la source d'ionisation.

Deux mesures peuvent être effectuées :

- **Mesure du courant ionique total.** — Pendant le séjour du composé dans la source d'ionisation. Un balayage répétitif permet en effectuant des enregistrements complets de spectres de masse d'accumuler des mesures de courants ioniques dont la somme est analogue au courant obtenu avec les détections habituelles en chromatographie.

La sélectivité n'est évidemment que celle de la séparation chromatographique et le spectromètre de masse n'agit alors que comme un détecteur indifférencié.

- **Fragmentométrie.** — Une très grande spécificité et sensibilité sont cependant obtenues si cette mesure s'effectue parallèlement de manière sélective sur un ion (SIM : Single Ion Monitoring) ou si l'on enregistre séparément le courant ionique de plusieurs fragments (2 à 8 ions selon les performances de l'informatique associée).

La sensibilité est de l'ordre du picogramme injecté; elle est d'autant plus élevée que le nombre d'enregistrements est plus grand, ce qui rend particulièrement adaptés, à cet effet, les analyseurs à balayage rapide (analyseur quadripolaire ou à piégeage d'ions).

Les ions choisis sont les plus abondants. Pour favoriser leur formation, on peut abaisser l'énergie d'ionisation ou procéder à une ionisation chimique et, par exemple, en SIM retenir l'ion $(M + H)^+$.

La sélectivité assurée par le choix d'un ion caractéristique est encore augmentée lorsque l'on mesure les courants de chacun des ions et que l'on établit leur rapport.

La reproductibilité repose sur la stabilité des différents paramètres intervenant, en particulier les potentiels d'ionisation et d'accélération. Comme dans toutes les méthodes chromatographiques, il est nécessaire de procéder à un étalonnage et d'introduire un étalon interne.

Une possibilité supplémentaire apparaît ici avec l'utilisation comme étalon interne de la molécule elle-même marquée par un ou plusieurs isotopes stables ^{13}C , ^2H , ^{15}N . S'il n'y a pas d'effet isotopique, ce dont il est nécessaire de s'assurer, la molécule marquée, aura le même temps de rétention que la

molécule à doser mais les fragments caractéristiques seront déplacés dans l'échelle de masse m/z en fonction du marquage effectué. Celui-ci doit être suffisant pour éviter le recouvrement des pics ($M + 3$ par exemple).

Un autre avantage tient au fait que tout au long des opérations préliminaires au dosage (extraction, formations de dérivés...), l'étalon aura le même comportement que la molécule à doser.

CHAPITRE XI

INTRODUCTION A L'ANALYSE ORGANIQUE ÉLÉMENTAIRE

L'analyse organique élémentaire a pour objet l'identification et le dosage des atomes constitutifs de la molécule organique; appliquée au composé isolé à l'état pur, elle représente la première étape dans l'établissement de la formule brute.

Ses méthodes comprennent deux phases successives :

- Destruction complète de la molécule organique par minéralisation oxydante ou réductrice.
- Dosage spécifique de l'élément ou des ions issus de la minéralisation.

MICROANALYSE ÉLÉMENTAIRE

L'analyse élémentaire est la branche la plus ancienne de la chimie analytique organique; si le principe de certaines méthodes n'a pas varié depuis plus d'un siècle, deux facteurs ont gouverné l'évolution des techniques :

- emploi des techniques microanalytiques;
- et automatisation des méthodes.

Avec la réduction des prises d'essai à l'échelle microanalytique (1 à 10 mg et parfois même 0,1 mg) la minéralisation du composé organique est plus rapide et les conditions opératoires (telles que chauffage à température élevée, emploi de réactifs agressifs, explosions etc...) sont moins dangereuses.

L'automatisation des techniques microanalytiques connaît un développement considérable: divers types d'appareils effectuent sur une même prise d'essai de composé organique le dosage du carbone, de l'hydrogène et de l'azote.

Ils se prêtent aux dosages en série et la durée de l'analyse est souvent inférieure à 15 minutes.

La microanalyse élémentaire n'est pas développée dans le cours; elle implique en effet une spécialisation très poussée sur les plans théorique et pratique :

- Organisation et agencement des laboratoires de microanalyse.
- Choix des techniques et appareils de minéralisation.
- Sélection des conditions opératoires (température, adjuvants, catalyseurs).
- Choix de l'appareil de mesure de l'élément ou des ions formés etc...

L'étude de la microanalyse élémentaire est limitée à l'énoncé des principes généraux de minéralisation et de détection pour le dosage du carbone, de l'hydrogène et de l'azote.

Dosage du carbone et de l'hydrogène. — La substance organique est brûlée en présence d'oxyde de cuivre CuO dans un courant d'oxygène; le carbone est transformé en dioxyde de carbone CO_2 et l'hydrogène en eau.

Divers adjuvants favorisent la dégradation :

- Oxydants : MnO_2 , oxyde de cérium.
- Catalyseurs d'oxydation (AgMnO_4 , oxyde de chrome) ou de contact (platine, palladium).

Divers procédés permettent de doser les produits formés, à titre d'exemples :

- Chromatographie en phase gazeuse.
- Titrimétrie après réception de CO_2 dans l'hydroxyde de baryum titré.
- Gravimétrie après réception de l'eau sur du perchlorate de magnésium etc...

Dosage de l'azote (Méthode de Dumas) 1831. — La méthode de Dumas est la méthode de référence applicable au dosage de l'azote de toutes les molécules organiques azotées. Elle repose sur le principe suivant :

- Destruction du composé organique azoté par chauffage vers 800°C en présence d'oxyde de cuivre CuO avec formation d'azote gazeux et faibles quantités d'oxydes d'azote N_xO_y .
- Entraînement des gaz par un courant de CO_2 et passage sur du cuivre chauffé qui réduit les oxydes d'azote en azote gazeux.
- Mesure du volume d'azote dégagé après fixation de CO_2 et H_2O sur des absorbants appropriés.

Le principe de la méthode de Dumas a été transposé à l'échelle microanalytique; elle exige des réactifs très purs en particulier la pureté du dioxyde de carbone de 99,999 % et l'oxyde de cuivre doit subir une purification spéciale.

Son principe est également appliqué au dosage simultané de C, H et N sur une même prise d'essai avec formation de CO_2 , H_2O et N_2 .

MÉTHODES COURANTES D'ANALYSE ORGANIQUE ÉLÉMENTAIRE

A côté des techniques de microanalyse élémentaire qui demeurent l'apanage de quelques laboratoires ou cellules spécialisées, d'autres méthodes n'exigeant pas de matériels ou de réactifs particuliers sont couramment utilisées dans tous les laboratoires de chimie analytique et doivent par conséquent retenir l'attention :

- Dosage de l'azote selon Kjeldahl.
- Dosage des métalloïdes après combustion dans l'oxygène selon Schöniger.
- Dosage des métalloïdes après minéralisation par le bioxyde de sodium.

Dosage de l'azote : Méthode de Kjeldahl. — PRINCIPE. — La méthode de Kjeldahl connue depuis 1883 repose sur la destruction des matières organiques par l'acide sulfurique concentré, à l'ébullition avec formation de sulfate d'ammonium. L'ammoniac déplacé par une base fixe est entraîné par la vapeur d'eau et l'hydroxyde d'ammonium titré par protométrie.

On admet que l'acide sulfurique en oxydant les matières organiques est partiellement réduit à l'état de SO_2 ; ce dernier réduit l'azote qui passe à l'état de sulfate d'ammonium dissous dans l'excès d'acide sulfurique.

Selon la teneur en azote et l'importance de la prise d'essai de l'échantillon analysé, on distingue :

	Échantillon examiné		
	<i>Teneur en N</i>	<i>Ordre de la grandeur de prise d'essai</i>	<i>Solution titrante</i>
Macrométhode	5 à 20 mg	500 mg	0,1 N
Semimicrométhode	0,5 à 4 mg	100 mg	0,02 N
Microméthode	50 à 50 µg	< 10 mg	0,01 N

MINÉRALISATION. — La minéralisation est effectuée dans une fiole de Kjeldahl en verre épais à long col, dans laquelle on introduit la prise d'essai et l'acide sulfurique concentré. Le liquide est chauffé jusqu'à décoloration en maintenant une ébullition tranquille sans laisser échapper les vapeurs de SO_3 qui doivent le surmonter.

ADJUVANTS. — La méthode de Kjeldahl à l'opposé de la méthode de Dumas n'est pas universelle. L'addition d'adjuvant a pour objet d'améliorer la minéralisation ou de la rendre applicable à des composés organiques « non Kjeldahlisables » par l'action de l'acide sulfurique seul.

- *Les adjuvants d'attaque* ont pour objet d'élever la température d'ébullition, par exemple K_2SO_4 , H_3PO_4 .
- *Divers types de catalyseurs* sont utilisés, par exemple
 - mercure, sélénium : favorisent l'attaque des composés hétérocycliques; la toxicité de leurs vapeurs exige des précautions et limite leur emploi.
- Adjuvants d'oxydation : perhydrol, $KMnO_4$, $HClO_4$.
- Cuivre, platine.
- Le mélange : $KHSO_4 + CuSO_4$ est souvent utilisé.

Dosage de l'ammoniaque. — APRÈS ENTRAÎNEMENT. — Après refroidissement du liquide de minéralisation, la neutralisation par l'hydroxyde de sodium en excès déplace l'ammoniac qui est entraîné par la vapeur d'eau; divers types d'appareils permettent d'opérer rapidement sans pertes.

L'ammoniaque est dosé par protométrie en présence d'un indicateur virant vers pH 5,4; en général, on utilise l'indicateur mixte dont l'emploi est courant pour le dosage de l'ammoniaque : bleu de méthylène + rouge de méthyle.

Selon les cas, le titrage est conduit

- directement : neutralisation de l'ammoniaque au fur et à mesure de son entraînement;
- par retour : l'ammoniac est reçue dans un excès de solution titrée d'acide sulfurique, qui est dosé par retour avec l'hydroxyde de sodium.

DOSAGE DIRECT. — Pour éviter la neutralisation et l'entraînement quelques méthodes sont utilisées directement sur le liquide de neutralisation.

- turbidimétrie après action de l'iodomercurate de potassium;
- colorimétrie ou fluorimétrie de l'ammoniaque par réaction de Hantzsch (v. p. 255).

APPLICATIONS. — La méthode de Kjeldahl est applicable au dosage de l'azote des composés organiques à l'exception

- des molécules qui perdent leur azote à l'état de N_2 gazeux avant la formation d'ammoniaque : dérivés diazoïques, azoïques, azoxyques, hydraziniques;
- des dérivés nitrosés et nitrés — la méthode de Kjeldahl leur est applicable après les avoir réduits par l'hydrogène ($Zn + HCl$) avant minéralisation;
- des molécules hétérocycliques dérivés de la pyridine, de la quinoléine, de l'isoquinoléine, etc...

La méthode de Kjeldahl est couramment utilisée en analyse appliquée pour le « dosage de l'azote total » des protides, des hydrolysats de protéines, du lait, des farines, etc...

La dénomination « azote total » est en fait impropre; les procédés mis en œuvre dosent l'azote minéralisé *dans les conditions d'utilisation de la méthode de Kjeldahl*. La reproductibilité et la précision des résultats sont excellentes

dans la mesure où l'analyse est exécutée en se conformant *rigoureusement* aux conditions opératoires décrites.

Dosage des métalloïdes après minéralisation dans l'oxygène : Méthode de Schöniger. — PRINCIPE. — Par combustion dans l'oxygène, les composés organiques dans lesquels un ou plusieurs atomes de métalloïdes font partie de l'édifice moléculaire sont minéralisés avec libération :

- pour les dérivés halogénés : d'halogènes;
- pour les dérivés soufrés : d'un mélange $\text{SO}_2 + \text{SO}_3$;
- pour les dérivés phosphorés : de $\text{P}_2\text{O}_3 + \text{P}_2\text{O}_5$.

Les produits formés sont reçus dans une solution alcaline et dosés sous forme ionisée.

La méthode de Schöniger est d'application très générale à l'échelle micro-analytique et fait appel aux méthodes classiques de la chimie analytique.

MINÉRALISATION. — L'appareillage très simple est constitué par une fiole conique en verre borosilicaté d'environ 500 ml, munie d'un rodage : le bouchon rodé porte un dispositif comportant une spirale en platine sur laquelle est fixée la prise d'essai placée dans un carré de papier filtre.

Après avoir introduit la solution alcaline destinée à recevoir les produits de combustion, l'air de la fiole est déplacé par un courant d'oxygène. La prise d'essai est brûlée dans cette atmosphère et la fiole maintenue bouchée pendant la combustion.

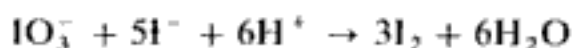
Après combustion, refroidissement et agitation, la solution est recueillie.

Dosage des métalloïdes. — HALOGÈNES. - Les halogènes libérés par combustion dans l'oxygène se dissolvent dans la solution alcaline à l'état de :

- fluorures et chlorures;
- bromures avec une faible quantité de BrO_3^- ;
- iodates avec une faible quantité d'iodures.

Le dosage est effectué au moyen des techniques classiques.

- *Chlorures* : argentométrie en milieu nitrique (potentiométrie).
- *Bromures* : après réduction de BrO_3^- par le borohydrure de sodium, les bromures sont dosés par argentométrie en milieu nitrique (potentiométrie).
- *Iodates* : dans un premier temps, la faible quantité d'iodures formés est oxydée à l'état d'iodate par le brome en milieu alcalin; le milieu ayant été privé de l'excès de brome par actions du biphtalate de potassium en milieu acide, l'iodate est dosé selon le procédé classique de libération d'iode selon la réaction :



et titrage par le thiosulfate de sodium.

— **Fluorures** : les fluorures sont dosés par titrimétrie par formation de complexe avec les ions Th^{4+} en présence d'alizarine ou diverses techniques colorimétriques.

— **SOUFRE** : la combustion dans l'oxygène a transformé le soufre organique en SO_2 et SO_3 dissous dans la solution alcaline à l'état de SO_3^{2-} et SO_4^{2-} .

Les sulfites sont oxydés en sulfates par le peroxyde d'hydrogène; les sulfates totaux sont titrés par l'un des deux procédés suivants :

— en milieu acétonique et acétique, titrage par le nitrate de plomb en présence de dithizone comme indicateur; le procédé n'est pas applicable si la molécule organique renferme un halogène ou du phosphore, du fait de l'insolubilité des halogénures et phosphates de plomb;

— en milieu hydroéthanolique, titrage par le perchlorate de baryum, le naphtarson étant utilisé comme indicateur.

— **PHOSPHORE** : La solution alcaline renferme principalement des phosphates. Après ébullition en milieu sulfurique, les phosphates totaux sont dosés par colorimétrie après action du réactif nitrovanadomolybdique.

Minéralisation oxydante par le bioxyde de sodium. — L'action oxydante et alcalinisante du bioxyde de sodium Na_2O_2 est souvent utilisée pour la minéralisation par voie sèche des molécules organiques halogénées à l'état de chlorures, bromures et presque totalement iodates.

L'appareil utilisé appelé Bombe de Parr ou pour la microanalyse « Bombe de Wurzschmidt » se fixe hermétiquement avec un dispositif de serrage du couvercle. La prise d'essai est mélangée avec le bioxyde de sodium, du nitrate de potassium et du saccharose pour faciliter la combustion. Le chauffage est effectué sur une petite flamme dans une enceinte de protection et provoque une déflagration en quelques minutes.

MÉTHODES DIVERSES

Diverses méthodes d'analyse élémentaire sont couramment utilisées dans des domaines particuliers notamment en analyse pharmaceutique; elles sont présentées sous forme schématique d'après le principe de la minéralisation.

Minéralisation réductrice. — Plusieurs méthodes utilisent la réduction des molécules organiques par le nickel de Raney, le zinc en milieu acide ou alcalin pour le dosage des halogènes. En fait, la réaction mise en jeu est une deshalogénéation sans destruction complète de la molécule organique.

Minéralisation oxydante. — Ces méthodes sont principalement utilisées pour la destruction de quantités importantes de matières organiques. Les éléments non volatils dans les conditions expérimentales sont ensuite dosés par les méthodes habituelles : gravimétrie, colorimétrie, absorption atomique etc...

— PAR VOIE HUMIDE :

Réactifs de minéralisation : acide sulfurique, réactifs sulfo-nitrique, sulfo-nitro-perchlorique, persulfate de sodium

— PAR VOIE SÈCHE :

Réactifs de minéralisation : mélanges $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{KNO}_3$, oxyde de calcium, $\text{MgO}/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, etc...

CHAPITRE XII

INTRODUCTION A L'ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE

Selon la définition classique, un groupement fonctionnel est un atome ou un ensemble d'atomes auxquels sont liées des propriétés physiques et une réactivité chimique particulières, se retrouvant à des degrés divers dans les molécules qui les renferment. L'analyse fonctionnelle consiste

- dans la caractérisation et le dosage de ces groupements dans les composés organiques;
- l'étude de leurs transformations chimiques;
- et l'application de leur réactivité à l'identification et au dosage de la molécule elle-même.

Elle concourt de plus à la détermination de la structure du composé.

DOMAINE DE L'ANALYSE FONCTIONNELLE

L'analyse fonctionnelle apparaît souvent limitée à un ensemble de tests d'orientation vers un groupement fonctionnel déterminé; ces tests fondés sur des critères physiques tels que la solubilité ou des réactions chimiques aboutissent à une classification simple des composés organiques.

A l'intérieur de chaque groupe, diverses réactions chimiques : formation de composés cristallisés dont on détermine les constantes physiques, le poids équivalent ou l'intensité d'absorbance dans le visible ou l'U.V., conduisent à l'identification de l'espèce. Ces méthodes appliquées à l'échelle semimicro ou microanalytique constituent un moyen sûr d'identification.

Toutefois, cette conception tend à donner une idée restreinte de l'analyse fonctionnelle qui ne présenterait alors qu'un intérêt assez limité. En règle générale, en effet, la recherche systématique des groupements fonctionnels à l'aide de méthodes dichotomiques présente de *nombreuses difficultés*; en particulier, la présence de plusieurs fonctions ou la réactivité variable d'un groupement fonctionnel en fonction du reste de la molécule, les interférences de réactions entre des groupements fonctionnels différents, empêchent tout

classement rationnel; l'introduction d'un composé nouveau, détruit parfois la classification souvent établie à grand peine.

Envisagée sous l'angle de la propriété physique, physico-chimique ou chimique commune à une partie de la molécule, à un atome ou un groupe d'atomes, le domaine de l'analyse fonctionnelle est en fait plus étendu (IR.RMN). En plus de l'identification et du dosage des fonctions de la molécule, elle englobe également l'étude de la réactivité indispensable pour l'emploi du composé chimique; c'est en effet à partir de la réactivité que l'on fonde les méthodes d'identification et de dosage dans les formes d'utilisation.

De plus, l'analyse fonctionnelle revêt une importance particulière pour l'étude de la stabilité des espèces organiques. En effet, son rôle réside aussi dans l'étude de la réactivité de la fonction au sein de la molécule, de l'influence des autres groupements fonctionnels présents et de l'encombrement. Les renseignements fournis par cette étude se révèlent d'une importance capitale. Il est en effet évident qu'un groupement fonctionnel peu réactif sera peu sensible aux agents extérieurs : le camphre est stable et l'on sait la faible réactivité de sa fonction cétone pour obtenir une dinitrophénylhydrazone. La connaissance de la réactivité propre à chaque groupement fonctionnel au sein de la molécule qui les supporte permet :

- d'en détecter les points faibles, à l'origine de l'instabilité;
- et souvent de prévoir la stabilité de ces composés dispersés dans des formes pharmaceutiques;
- ou bien leurs transformations lors de leur transit dans l'organisme.

De même, l'étude de la réactivité concourt aussi à la précision de la transformation des molécules organiques au cours du métabolisme comme à la mise au point des méthodes d'investigation des produits de transformation. Elle prend aussi une importance primordiale et tient un rôle particulièrement important dans le contrôle des médicaments et les divers domaines de l'analyse pharmaceutique.

RÉACTIONS CHIMIQUES EN ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE

L'analyse organique fonctionnelle est basée sur les réactions de la chimie organique parmi lesquelles, l'analyste doit faire un choix permettant d'assurer

- la spécificité ou tout au moins la sélectivité de l'identification;
- la précision des mesures quantitatives;
- l'adaptation des réactions aux moyens physiques, chimiques ou instrumentaux.

Cette adaptation des moyens de mesure aux servitudes de la précision de l'analyse suscite un certain nombre de difficultés.

Structure et réactivité des molécules organiques

Les innombrables types de molécules organiques et les variations de réactivité des groupements fonctionnels en fonction de la molécule qui les supporte s'opposent à la mise au point de méthodes générales. On se souviendra que la réactivité d'une molécule organique ne résulte pas de l'addition de chacune de ses fonctions; l'encombrement de la molécule, les positions relatives doivent être prises en considération. *L'individualité de la molécule organique restreint la notion de groupement fonctionnel.* La transposition des méthodes et leur adaptation à chaque cas particulier est de règle :

modification des conditions opératoires, changement de solvants, nature des catalyseurs etc...

Certaines réactions sont communes à plusieurs fonctions et ainsi à l'origine d'*interférences* dans le cas d'analyse de mélanges; par exemple, l'acétylation des fonctions hydroxylées conduit aux esters, celle des amines primaires et secondaires aux amides correspondants.

La présence d'autres groupements fonctionnels peut modifier la propriété d'une fonction. Le phénol C_6H_5OH est un acide faible; ses dérivés substitués par des groupements électronégatifs (chlorophénols, nitrophénols) voient leur acidité exaltée.

La présence de fonctions hydrophiles (hydroxyle, carboxyle) limite la précipitation des bases organiques par un réactif tel que le tétraphénylborure de sodium $(C_6H_5)_4BNa$ ou l'extractibilité d'une paire d'ions (laurylsulfate de base organique).

Limitation du nombre des réactions applicables

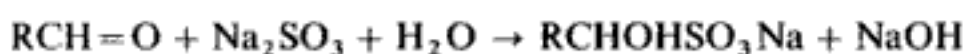
Le nombre des réactions de chimie organique applicables à l'identification qualitative et au dosage des groupements fonctionnels et des molécules organiques est relativement restreint. Interviennent en effet dans le choix d'une réaction d'analyse organique par voie chimique :

- la cinétique de la réaction qui doit être suffisamment rapide;
- son équilibre avec la possibilité de le déplacer en faveur d'une transformation quantitative;
- un domaine d'application le plus large possible;
- la formation au cours de la réaction d'un composé dont les propriétés sont mesurables au moyen des méthodes de la chimie analytique :
- électrochimiques : potentiométrie; polarographie etc...
- spectrophotométriques : U.V., visible, fluorescence...;
- à l'aide d'indicateurs chimiques de protométrie, oxydoréductimétrie etc...;
- accessibilité des réactifs dans un état de pureté satisfaisant sans avoir à recourir à une synthèse ou une purification particulières.

***Applications analytiques
des réactions incomplètes ou non stœchiométriques***

Si l'atteinte d'équilibre d'une réaction de chimie organique limite le nombre des réactions applicables à l'analyse quantitative, diverses modalités permettent néanmoins leur emploi.

- emploi d'un excès de réactif qui est titré par retour : dosage bromométrique du phénol, iodométrique de l'acétone etc...;
- modification de l'acidité du milieu : le dosage des aldéhydes par combinaison avec NaHSO_3 est conduit selon la réaction :



- des réactions non stœchiométriques peuvent être utilisées pour le dosage des molécules organiques.

Un exemple classique est celui de la réduction des oses par les sels de cuivre en milieu alcalin. Le mécanisme de la réaction n'est pas complètement élucidé; toutefois dans des conditions rigoureuses de concentration en sucre réducteur et en réactif cuprotartrique du milieu, de température et de durée d'ébullition, la réaction est reproductible et par conséquent utilisable *dans ces conditions* pour le dosage.

De même certaines réactions aboutissant à des dérivés colorés, fluorescents ou absorbant dans l'U.V. ne sont pas quantitatives. Néanmoins, la cinétique de la réaction est telle que dans des conditions bien définies de concentration en composé analysé et en réactif, de durée et de conditions opératoires, la réaction se déroule selon une cinétique qui autorise le dosage. L'emploi de telles réactions est donc subordonné à une étude préalable, à une mise au point expérimentale et à la comparaison avec un témoin traité dans les mêmes conditions lors de chaque application.

Formation de dérivés

La mesure des propriétés physiques ne peut s'adresser qu'à la molécule organique préalablement isolée à l'état pur ou séparée des autres composants d'un mélange par un procédé tel que la chromatographie. L'objectif de l'analyse fonctionnelle est donc dans la formation de dérivés ou transformation de la molécule par réaction des fonctions en un composé dont on mesure ensuite une propriété. En d'autres termes, toute méthode d'analyse fonctionnelle se déroule en deux étapes :

- formation d'un dérivé par réaction physico-chimique ou chimique;
- mesure d'une propriété de ce dernier : constantes physiques, spectre stœchiométrie de la réaction.

On notera ainsi que la formation d'un dérivé apporte une preuve complémentaire de l'identité d'une substance; de plus, la spécificité ou tout au moins la sélectivité d'une réaction permet dans certains cas, l'identification et le dosage d'un composé organique sans extraction préalable ou après une extraction simplifiée. L'analyse fonctionnelle offre pour cette raison un choix particulièrement varié de méthodes dans tous les domaines de l'analyse appliquée tels que analyse pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, biologie clinique etc...

Méthodes titrimétriques d'analyse fonctionnelle

Un certain nombre de réactions de chimie organique relèvent directement des méthodes traditionnelles de la chimie analytique.

- **Précipitation, complexation, chélation.** — Formation de dérivés avec les ions métalliques (Ag^+ , Cu^{2+} , par exemple) et dosage de l'excès par les voies habituelles (argentimétrie, complexométrie);

- **Oxydo-réduction.** — Un très grand nombre de réactions sont applicables à l'analyse quantitative, par exemple :

Oxydation des thiols ou mercaptans RSH par un excès d'iode titré par retour.

Oxydation des α glycols par l'acide periodique et dosage de l'excès de réactif en présence de l'acide iodique formé.

Bromation du phénol par formation de tribromophénol et dosage de l'excès de brome par bromo-iodométrie.

Oxydo-réduction en milieu alcalin entre les molécules à fonction aldéhyde ou les oses réducteurs et les sels de Cu^{2+} (méthode de Bertrand) ou de Hg^{2+} .

- **Méthodes protométriques.** — En plus du dosage direct par protométrie en solution aqueuse des acides carboxyliques solubles dans l'eau, la libération ou la consommation du proton H^+ au cours d'une réaction chimique est largement utilisée : saponification des esters, dosage des dérivés halogénés etc...

Le domaine d'application de l'analyse organique s'est considérablement étendu avec l'emploi des solvants autres que l'eau :

- dosage des acides organiques en solvant basique : pyridine, diméthylformamide;

- dosage des bases organiques en solvant acide : acide acétique.

Parallèlement les réactions d'analyse fonctionnelle dans des solvants variés bénéficient du développement des méthodes instrumentales d'analyse le plus souvent directement applicables à ces solutions et notamment la potentiométrie et la conductimétrie (v. Tome I p. 168).

• *Réactions diverses de chimie organique.* — Certaines réactions de chimie organique ressortissant à des mécanismes différents ou plus complexes sont également directement applicables : fixation d'halogène (brome, iode) par exemple sur les doubles liaisons.

En résumé, les réactions et les méthodes traditionnelles de chimie analytique connaissent des possibilités directes d'applications à l'analyse organique. Leur champ d'application est plus particulièrement réservé au dosage de l'espèce isolée (par exemple teneur en produit pur d'un médicament); leur précision est celles des méthodes titrimétriques.

Formation de dérivés cristallisés

L'identification des composés organiques a d'abord été basée sur l'emploi de réactifs des fonctions conduisant à la formation de composés cristallisés dont on mesure les constantes physiques : fusion, indice de réfraction, pouvoir rotatoire etc...; c'est ainsi que les réactions classiques d'oximation ou de formation d'hydrazones à partir des molécules organiques carbonylées ont reçu des applications analytiques multiples.

La mise au point de réactifs d'un poids moléculaire plus élevé (tels que la 2-4 dinitrophénylhydrazone) permet d'obtenir des dérivés cristallisés, avec un meilleur rendement; le recours à des réactifs plus stables conduit à des dérivés isolés plus facilement à l'état pur; par exemple, l'isothiocyanate de naphthyle $C_{10}H_9N=C=S$, réactif des fonctions alcool ou amine est plus stable que l'isocyanate de phényle $C_6H_5N=C=O$.

L'emploi de certains réactifs permet de régénérer la molécule originelle; dans ce domaine, une place particulière doit être réservée au chlorure de triméthylacéthhydrazide ammonium (réactif de Girard et Sandulesco).



qui se combine par sa fonction $-CONHNH_2$ aux composés carbonylés et confère aux dérivés une solubilité exceptionnelle dans l'eau par la présence de la fonction ammonium quaternaire. Leurs hydrazones sont hydrolysables et le réactif permet de récupérer ensuite après isolement de l'hydrazone, l'aldéhyde ou la cétone originels.

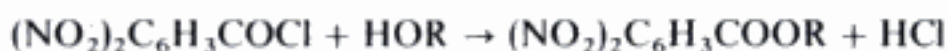
Dérivés absorbant dans le visible et l'ultraviolet ou fluorescents

C'est dans le domaine de la formation de dérivés absorbant dans le visible et l'ultraviolet ou fluorescents que l'analyse organique fonctionnelle a pris depuis une vingtaine d'années un essor considérable. Avec ces méthodes, l'analyse fonctionnelle gagne en sensibilité et spécificité et l'on dispose actuellement pour chaque fonction d'un très grand nombre de réactions permettant de choisir celle qui convient le mieux dans un cas particulier et de pallier les interférences. Quelques exemples seront donnés plus loin.

Les réactions actuellement utilisées répondent à un mécanisme connu et ont remplacé avantageusement des réactions empiriques autrefois mises en œuvre avec plus ou moins de précision ou de fidélité. De telles réactions en effet telles que certaines colorations obtenues avec des réactifs variés en milieu sulfurique ou avec des solutions de chlorure ferrique, dépendent des conditions opératoires, de la concentration de réactif, de la durée et de la température de contact etc... rendant le résultat d'une fiabilité douteuse.

Lorsque les composés organiques forment avec le réactif un composé extractible par un solvant non miscible au milieu réactionnel, la spécificité des méthodes d'identification et dosage se trouve améliorée. Les dosages sont alors conduits selon la séquence suivante :

— réaction chimique du groupement fonctionnel de la molécule avec le réactif : par exemple formation d'un ester dinitro-3-5 benzoïque en milieu pyridiné :



— hydrolyse par l'eau de l'excès de réactif et neutralisation des acides par le carbonate monosodique;

— extraction par l'hexane de l'ester dinitro-3,5 benzoïque qui est mis en évidence dans ce solvant par la réaction colorée de Janovsky-Zimmermann : coloration en présence d'un composé à méthylène actif et en milieu alcalinisé par un hydroxyde d'ammonium quaternaire par formation d'une structure quinoïde.

De tels procédés permettent de plus d'améliorer la sensibilité de la réaction, le composé formé étant extrait par un faible volume du solvant non miscible.

On se rappellera également la formation de paires d'ions extractibles par un solvant non miscible qui autorise par exemple le dosage de traces de bases organiques par mesure de l'absorbance dans l'ultraviolet de leurs laurylsulfates extraits par le chloroforme. De même la formation d'une paire d'ions entre un colorant anionique (méthylorange, bleu de bromophénol...) et un ammonium quaternaire permet le dosage colorimétrique de ce dernier dans la phase organique (v. Tome II p. 53).

Couplage de l'analyse fonctionnelle et de la chromatographie

— Les réactions de l'analyse fonctionnelle sont utilisées pour la révélation des composés organiques séparés par chromatographie sur couches minces ou sur papier, par formation de dérivés colorés ou fluorescents. De multiples « révélateurs » sont ainsi utilisés : réactifs phosphotungstiques, phosphomolybdotungstique (réactifs des phénols), réactifs nitro-nitrosomercuriels (réactifs de Millon), réactifs iodomercuriques ou iodobismuthiques (bases organiques), réactifs à la ninhydrine (acides aminés etc...). Sans entrer dans le détail, deux points méritent d'attirer l'attention :

— Les réactifs révélateurs répondent à des formules très variées dont la

sensibilité et le domaine d'application dépendent souvent de la composition et des conditions opératoires.

— La formation d'une tache colorée par pulvérisation du réactif sur le chromatogramme identifie le composé mais n'autorise pas pour autant son dosage par lecture directe de l'intensité de la coloration sur la plaque ou par mesure de l'absorbance après élution. Le recours à de telles techniques est soumis à une vérification préalable de la validité du procédé.

— C'est principalement dans le domaine de la chromatographie gaz-liquide et liquide-solide que la formation de dérivés connue sous le nom de «dérivatisation» a pris un développement très important. Les réactions utilisées (v. Tome II p. 161 et p. 226) ont pour but :

— soit de diminuer la polarité de fonctions acides ou basiques : blocage ou transformation des groupements fonctionnels par estérification, silylation;

— soit de rendre le composé à identifier ou doser, décelable par le détecteur par réaction du groupement fonctionnel conduisant à un dérivé coloré, fluorescent ou absorbant dans l'ultraviolet.

CHAPITRE XIII

MÉTHODES GÉNÉRALES D'ANALYSE FONCTIONNELLE

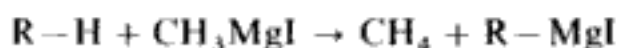
Il est a priori difficile ainsi qu'il a été vu précédemment, de décrire des méthodes générales d'analyse fonctionnelle étant donné la diversité et la réactivité très différente des groupements fonctionnels; de plus, les composés organiques porteurs d'une même fonction ont vis-à-vis des réactifs, une réactivité très différente influencée par le squelette carboné, la présence d'autres fonctions et leurs positions respectives. Sont groupés arbitrairement ici sous la rubrique de Méthodes générales d'analyse fonctionnelle, des procédés analytiques fondés :

- sur des propriétés communes à plusieurs fonctions : hydrogène mobile, acides et bases organiques;
- sur des réactions applicables à plusieurs groupements fonctionnels : acylation;
- sur des réactions aboutissant à des composés justiciables d'une méthode spectrophotométrique d'absorption dans le visible ou l'ultraviolet ou de fluorescence qui forment un chapitre particulier.

Détermination de l'hydrogène mobile

Test de Zerewitinoff. — Tschugaeff (1902) observa que des molécules renfermant un atome d'hydrogène actif dégagent quantitativement du méthane par réaction de Grignard sur l'iodure de méthylmagnésium en solution dans l'éther anhydre.

Zerewitinoff (1906) décrivit les modalités d'applications à un grand nombre de composés organiques : alcools, mercaptans, amines, amides, acides etc...



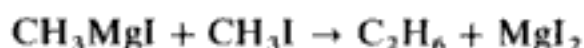
La formation quantitative de méthane s'opère également à partir des fonctions sulfonique, thiol, acétylénique vrai etc... et d'une manière générale à tous les composés renfermant un *atome d'hydrogène remplaçable par un métal*. Le procédé a été transposé à l'échelle microanalytique et l'appareillage

perfectionné en vue d'éliminer les principales causes d'erreurs; celles-ci peuvent être dues :

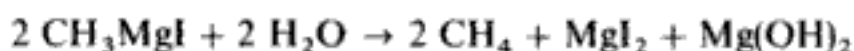
- à une absorption d'oxygène :



- à un dégagement d'éthane :



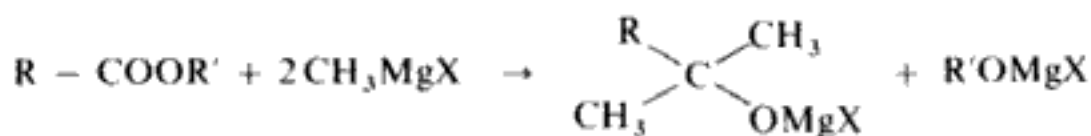
- à l'humidité :



La méthode de Zerewitinoff exige l'emploi de solvants anhydres : oxyde d'éthyle ou éthers-oxydes peu volatils (oxydes de butyle ou amyle, anisole).

La réactivité des atomes d'hydrogène mobile varie dans d'assez larges limites selon les fonctions présentes :

- dégagement d'une molécule de méthane : acides, alcools, phénols, thiols, amines primaires;
- dégagement de méthane et fixation d'une deuxième molécule d'organomagnésiens, acides carboxyliques, amides;
- fixation d'organomagnésiens par addition sans dégagement de méthane : aldéhydes, cétones, nitriles, esters.



Le test de Zerewitinoff est applicable à de tels composés.

Dans un premier temps, on détermine le titre d'une solution de CH_3MgI dans l'éther anhydre en lui ajoutant un excès d'aniline et mesurant le volume de méthane dégagé. Dans un deuxième temps, le dosage des hydrogènes mobiles des composés de ce type est effectué en présence de la même quantité de solution titrée de CH_3MgI , en excès; lorsque la réaction est terminée, on ajoute un excès d'aniline qui forme, avec l'excès de magnésien qui n'a pas réagi, du méthane. La différence correspond à la quantité de réactif de Grignard consommée par le composé sans dégagement gazeux.

En dépit des perfectionnements des appareillages, le procédé demeure d'application délicate.

Hydruure d'aluminium lithium. — L'hydruure d'aluminium lithium LiAlH_4 réagit sur les atomes d'hydrogène mobile selon la réaction :



les réactions sont plus facilement quantitatives qu'avec le réactif de Grignard; elles s'effectuent souvent à la température ambiante, les réactions secondaires sont moins nombreuses et le réactif est relativement stable.

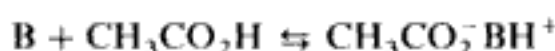
Les dosages sont effectués par mesure du volume d'hydrogène dégagé ou par titrimétrie; dans ce dernier cas, après réaction du composé à doser, l'hydruure d'aluminium introduit en excès connu, est dosé au moyen d'une solution d'un alcool; le point d'équivalence est déterminé par une méthode électrochimique (potentiométrie, conductimétrie) ou à l'aide d'indicateurs colorés tels que le N-méthyl paraaminoazobenzène.

Protométrie des groupements fonctionnels

L'emploi des solvants non aqueux a considérablement élargi le domaine d'application de la protométrie à de nombreux groupements fonctionnels. Cette extension est due pour une part au fait qu'ils assurent la dissolution du plus grand nombre des molécules organiques en général peu solubles ou insolubles dans l'eau. D'autre part, le solvant intervient sur l'acidité des couples acide-base dissous par sa constante diélectrique et son effet prototropique selon des modalités qui ont été développées dans le tome I. Sont seulement résumées ici les principales applications de la protométrie directe ou par transformation, des bases et acides organiques dans des solvants protiques dissociants ou peu dissociants d'usage courant.

Protométrie des fonctions basiques. — La protométrie des bases organiques revêt une importance particulière pour l'analyse pharmaceutique. Les titrages sont conduits dans l'acide acétique anhydre avec une solution titrée d'acide perchlorique; le point d'équivalence est décelé par potentiométrie ou à l'aide d'indicateurs colorés tels que le cristal violet, l' α -naphtol benzéine...

La protométrie est directement applicable à tous les composés organiques présentant un atome d'azote basique dans leur molécule :



B représentant une base organique.

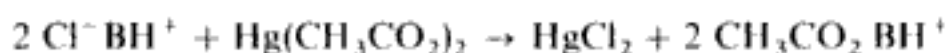
— Amines primaires, secondaires, tertiaires, aliphatiques, aromatiques, hétérocycliques.

— Hydroxydes d'ammonium quaternaire.

— Quelques oximes, imines, hydrazines etc...

rentrent dans cette catégorie de bases organiques, y compris tous leurs sels avec des acides organiques de force voisine ou inférieure à celle de l'acide acétique; propionates, maléates, malates, benzoates, salicylates...

Dans le cas des chlorures de bases organiques, la base chlorure n'est pas suffisamment forte dans le solvant, acide acétique; elle est soustraite du milieu par complexation avec l'acétate mercurique selon :



Dans le cas des sulfates, seule la première acidité est forte dans l'acide acétique anhydre; l'addition d'un solvant peu dissociant de faible constante diélectrique affaiblit la fonction acide de H_2SO_4 et permet le titrage.

En analyse pharmaceutique, la protométrie dans l'acide acétique anhydre s'adresse à un très grand nombre de médicaments qui renferment le plus souvent une fonction amine tertiaire : dérivés phénothiaziniques, anesthésiques locaux, spasmolytiques et tous les alcaloïdes à noyau hétérocyclique dérivé de la quinoléine, isoquinoléine, tropane, etc...

Protométrie des fonctions acides. — Les solvants basiques : diméthylformamide (D.M.F.), pyridine révèlent l'acidité des molécules organiques aptes à céder un proton. La difficulté des titrages dans ces solvants réside dans le choix d'une solution titrante de base forte; les hydroxydes alcalins ou d'ammonium quaternaires ne sont pas solubles et il est nécessaire de recourir à une titration en solvant mixte :

- méthylate de sodium en solvant benzène méthanol (v. tome I p. 76);
- hydroxyde d'ammonium quaternaire en solution dans l'isopropanol; en général, on utilise l'hydroxyde de tétrabutylammonium en solvant isopropanol ou isopropanol/méthanol.

Le point d'équivalence est décelé par potentiométrie ou à l'aide d'indicateurs tels que bleu de thymol, thymolphtaléine.

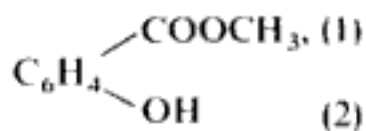
De nombreux types de molécules organiques se comportent comme des acides titrables dans la pyridine ou le diméthylformamide :

- acides carboxyliques (titrables en solution aqueuse lorsqu'ils sont solubles);
- anhydrides d'acides organiques;
- énols, imides, sulfonamides, barbituriques (fonction acide);
- phénols : le phénol est un acide très faible dont le point d'équivalence n'est pas déterminé avec une précision suffisante pour le dosage. En revanche, les phénols substitués par des fonctions électronégatives telles que $-\text{CHO}$, COR , $-\text{COOR}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{Cl}$, $-\text{NO}_2$ sont des acides forts aisément titrables.

Le titrage différentiel de plusieurs fonctions acides dans un mélange ou un polyacide est souvent réalisé dans la pyridine ou plus souvent dans l'acétone :

- acides sulfurique, malonique, malique, tartrique : la courbe de neutralisation de chacun de ces acides présente deux inflexions correspondant au point de neutralisation de chaque fonction;
- un mélange d'acides chlorhydrique, acétique et chlorophénol présente trois inflexions correspondant aux points d'équivalence respectifs.

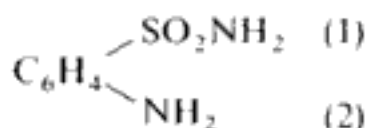
L'acide hydroxy-4 benzoïque présente deux points d'équivalence (fonction acide et phénol); inversement, en raison même de la structure, seule la fonction carboxylique de l'acide hydroxy-2 benzoïque (salicylique) est révélée au cours du titrage. En revanche, dans la neutralisation d'un mélange d'acide salicylique et de salicylate de méthyle



la première inflexion de la courbe de neutralisation correspond à la fonction carboxylique de l'acide salicylique et la deuxième à la fonction phénol du salicylate de méthyle; dans ce dernier composé, l'effet du carboxyle a été supprimé par l'estérification.

Protométrie des amphotères. — Le dosage des amphotères peut être réalisé par l'intermédiaire de la fonction acide ou de la fonction basique en fonction du solvant choisi.

Les acides aminés $R - CH \begin{matrix} \nearrow COOH \\ \searrow NH_2 \end{matrix}$ sont titrés comme base dans l'acide acétique anhydre et comme acide dans un mélange eau/pyridine. Le sulfanilamide



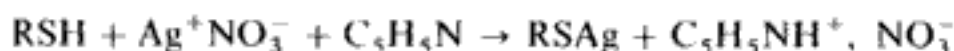
est titré comme acide dans le D.M.F. et comme base faible dans l'acide acétique.

Protométrie par transformation. — Lorsqu'une molécule organique ne présente pas de groupements fonctionnels titrables, on peut par réaction chimique les transformer en acide ou base titrables par les méthodes usuelles.

Le solvant joue alors un double rôle :

- réservoir de protons qu'il délivre ou capte selon le déroulement de la réaction qu'il permet de rendre complète;
- révélateur de l'acidité ou de la basicité apparue dans le milieu réactionnel.

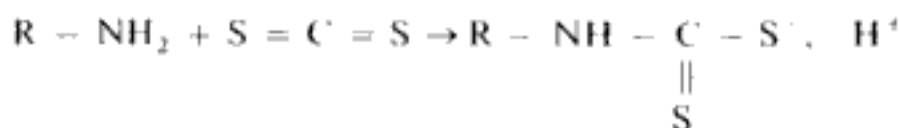
Ainsi, dans la réaction d'un thiol sur les ions Ag^+ en solvant pyridine



la pyridine accepteur de proton rend la réaction complète et l'ion pyridinium qui est l'acide le plus fort existant dans ce solvant est titrable par acidimétrie avec l'hydroxyde de sodium en solution éthanolique.

Selon ce même schéma réactionnel, les acétyléniques vrais $R - C \equiv CH$ forment un dérivé argentique titrable. De même les barbituriques forment un composé diargentique avec libération de $2 H^+$ titrables, alors que sans réaction préalable avec Ag^+ , une seule fonction acide est révélée.

La protométrie par transformation fait l'objet d'applications multiples. A titre d'exemple, une amine primaire ou secondaire forme avec le sulfure de carbone en milieu pyridiné un acide dithiocarbamique titrable :



D'autres exemples schématisent les possibilités d'application qui font partie des méthodes classiques de l'analyse fonctionnelle :

<i>Fonction</i>	<i>Réactif</i>	<i>Titrage final</i>
$\text{R}-\text{OH}$ (primaire ou secondaire)	$(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O} \rightarrow \text{ROCOOCH}_3 + \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$
$\text{R}-\text{NH}_2$	$(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O} \rightarrow \text{RNHOCCH}_3 + \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$
$\text{R}-\text{CO}-\text{R}'(\text{H})$	$\text{H}_3\text{C}-\text{NOH}-\text{Ar} \rightarrow \text{R}-\text{C}(\text{H})=\text{N}-\text{Ar} + \text{OH} + \text{H}_2\text{O} + \text{HA}$	HA ou excès de base
$\text{R}-\text{CH}=\text{O}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{Ar} \rightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{N}-\text{Ar}$	excès de base
$\text{R}-\text{COOR}'$	$\text{NaOH} \rightarrow \text{RCOONa} + \text{R}'\text{OH}$	excès de base

Acylation (acétylation)

L'acylation des fonctions hydroxyle ou amine s'effectue selon deux modalités principales qui relèvent en fait de la protométrie par transformation :

- acétylation par l'anhydride acétique en solvant pyridine;
- propionylation par l'anhydride propionique en solvant acide acétique.

Ces réactions ont été décrites; on rappellera ici que leurs domaines d'application ne sont pas rigoureusement superposables (v. Tome I p. 90).

L'acétylation pyridinée est quantitative avec les alcools primaires et secondaires; elle est plus lente et non quantitative avec les alcools tertiaires et les phénols. Des résultats variables en fonction de la nature de la molécule sont obtenus avec les amines.

Le domaine d'application de la propionylation en solvant acide acétique est plus étendu; le procédé est applicable aux alcools tertiaires, aux phénols et aux amines primaires et secondaires.

Réactions diverses

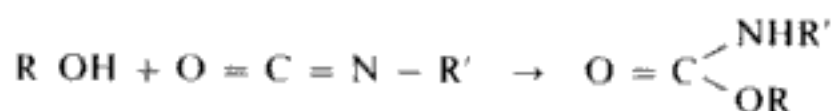
D'autres réactions peuvent être appliquées à l'identification ou au dosage des groupements fonctionnels par exemple :

Estérification par les chlorures d'acides en milieu pyridine :

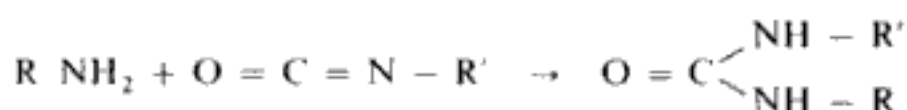


Réaction avec les esters isocyaniques ou isothiocyaniques pour l'identification et éventuellement le dosage des fonctions :

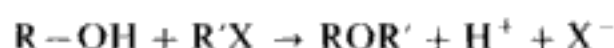
— hydroxylées avec formation d'uréthannes



— aminées avec formation d'urées substituées



Alcoylation ou arylation des fonctions hydroxylées ou aminées primaires



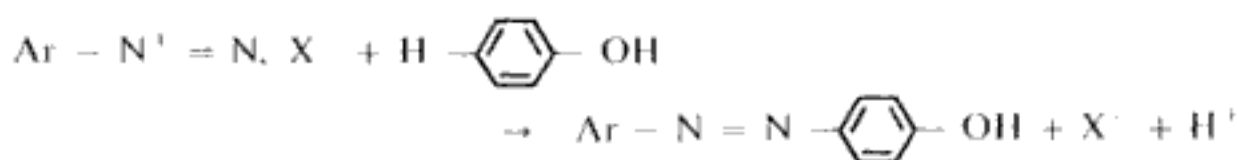
R'X représentant par exemple des réactifs tels que le dinitro-2,4 fluoro-benzène $(NO_2)_2C_6H_3F$ acide monochloroacétique $ClCH_2COOH$, etc...

Méthodes spectrophotométriques d'analyse fonctionnelle

Les méthodes spectrophotométriques d'analyse fonctionnelle basées sur des réactions chimiques aboutissant à des dérivés absorbant dans le visible, l'ultraviolet ou fluorescents constituent l'une des acquisitions majeures de cette branche de l'analyse organique depuis une vingtaine d'années. Il n'est pas possible d'envisager toutes les possibilités offertes par l'analyse organique; sont exclusivement décrites ici quelques réactions choisies parmi celles qui sont d'une application très courante dans tous les domaines de la chimie analytique organique appliquée.

Réaction de diazocopulation

Depuis sa découverte par Griess en 1858, la réaction de diazocopulation a connu un développement analytique considérable et compte parmi les méthodes d'analyse fonctionnelle qui reçoit le plus d'applications. Elle réside dans la réaction entre une arylamine primaire et l'acide nitreux avec formation de sel de diazonium $Ar-N \equiv N, X^-$ et dans un deuxième temps de la copulation de ce composé avec une amine ou un phénol



Les réactions analytiques qui mettent en œuvre cette réaction peuvent être classées en trois groupes :

- le sel de diazonium est le réactif;
- le composé que l'on recherche ou dose (amine aromatique) est transformé en sel de diazonium que l'on copule avec un réactif approprié;
- le composé étudié donne naissance directement ou indirectement à de l'acide nitreux que l'on décèle par diazotation d'une amine aromatique primaire puis copulation.

DÉTECTION ET DOSAGE PAR LES SELS DE DIAZONIUM. — Les réactifs les plus couramment utilisés sont l'acide parasulfanilique diazoté (réactif d'Erlich) et la *p*-nitroaniline diazotée obtenus respectivement à partir de l'acide sulfanilique $\text{HO}_3\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2$ et de la nitro-4 aniline $\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$.

Les colorations des azoïques formés par copulation sont en général très intenses avec un très grand nombre de composés :

- phénols;
- composés à méthylène actif;
- amines aromatiques;
- dérivés nitrés aliphatiques primaires;
- amines aliphatiques primaires;
- arylhydrazones d'aldéhydes;
- composés à liaison éthylénique;
- composés hétérocycliques : dérivés de l'imidazole (histidine, histamine), de la purine, de la pyrimidine, dérivés indoliques, pyrroliques (bilirubine).

L'aptitude à la coloration des phénols dépend de la structure du phénol, du diazocopulant, de la nature et de la position des substituants du noyau phénolique (les positions *ortho* ou *para* doivent être libres). Contrairement aux halogènes, les substituants $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NO}_2$ sont défavorables.

DÉTECTION ET DOSAGE PAR DIAZOTATION. — La coloration des azoïques formés par copulation des arylamines primaires avec un sel de diazonium est en général peu sensible. Aussi, pour la détection et le dosage des amines aromatiques, il est préférable dans un premier temps de les diazoter puis dans le deuxième temps après destruction de l'excès d'acide nitreux, de copuler le sel de diazonium avec une amine ou un phénol.

Un grand nombre d'amines ou de phénols sont utilisés pour révéler le sel de diazonium formé : phénol, α naphthol, α naphtyléthylènediamine (Bratton-Marshall), naphtyldiéthylpropylènediamine (réactif de Tréfouel).

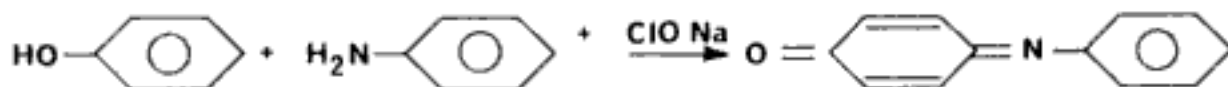
L'analyse pharmaceutique met largement à profit cette réaction pour le dosage de composés à fonction amine aromatique primaire libre dans certains sulfamides ou anesthésiques locaux (procaïne).

Le sel de diazonium du méta-aminophénol est stable, celui de l'acide

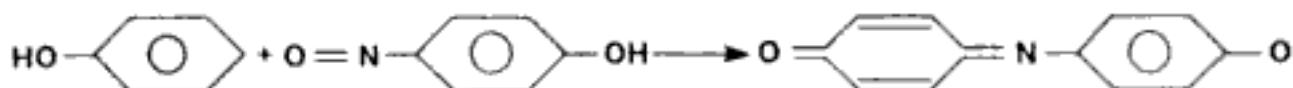
paraaminosalicylique (P.A.S.) ne l'est pas; on peut ainsi rechercher et doser le métaaminophénol qui se forme par décomposition de l'acide amino-4 salicylique (P.A.S.).

APPLICATION AUX DÉRIVÉS LIBÉRANT DE L'ACIDE NITREUX. — La diazocopulation est applicable à la recherche de traces d'acides organiques. L'addition de traces d'acide à un mélange de parasulfanilate de sodium et α -naphtylamine provoque en milieu dioxannique ou acétonique l'apparition de la coloration de l'azoïque formé. De même, la diazocopulation est applicable aux composés organiques susceptibles de libérer par hydrolyse de l'acide nitreux (dérivés nitrosés de certains alcools ou thiols).

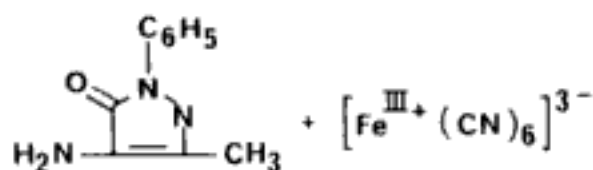
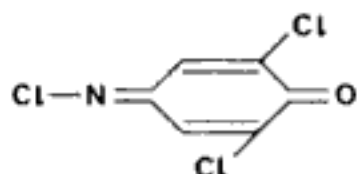
Formation d'indophénols. — La réaction des composés phénoliques sur les amines primaires en présence d'un oxydant conduit à des indophénols ou N-arylquinones imines colorés. Ainsi, l'aniline et le phénol forment en présence d'hypochlorite de sodium un indophénol bleu en milieu acide, rouge en milieu alcalin applicable au dosage des traces de dérivés phénoliques. Diverses méthodes d'identification et de dosages colorimétriques reposent sur le principe de cette réaction en fonction du réactif utilisé :



— dans la réaction des phénols avec l'acide sulfurique nitreux (réaction de Libermann) le nitrosophénol formé réagit avec l'excès de phénol selon :



— la réaction de Millon des phénols avec le réactif nitro-nitrosomercuriel (mercure dissous dans l'acide nitrique) répond à un mécanisme du même type de même que la réaction des phénols avec la dichloro-2,6 chlorimine-4 quinone ou l'amino-4 phénazone (A₄P).



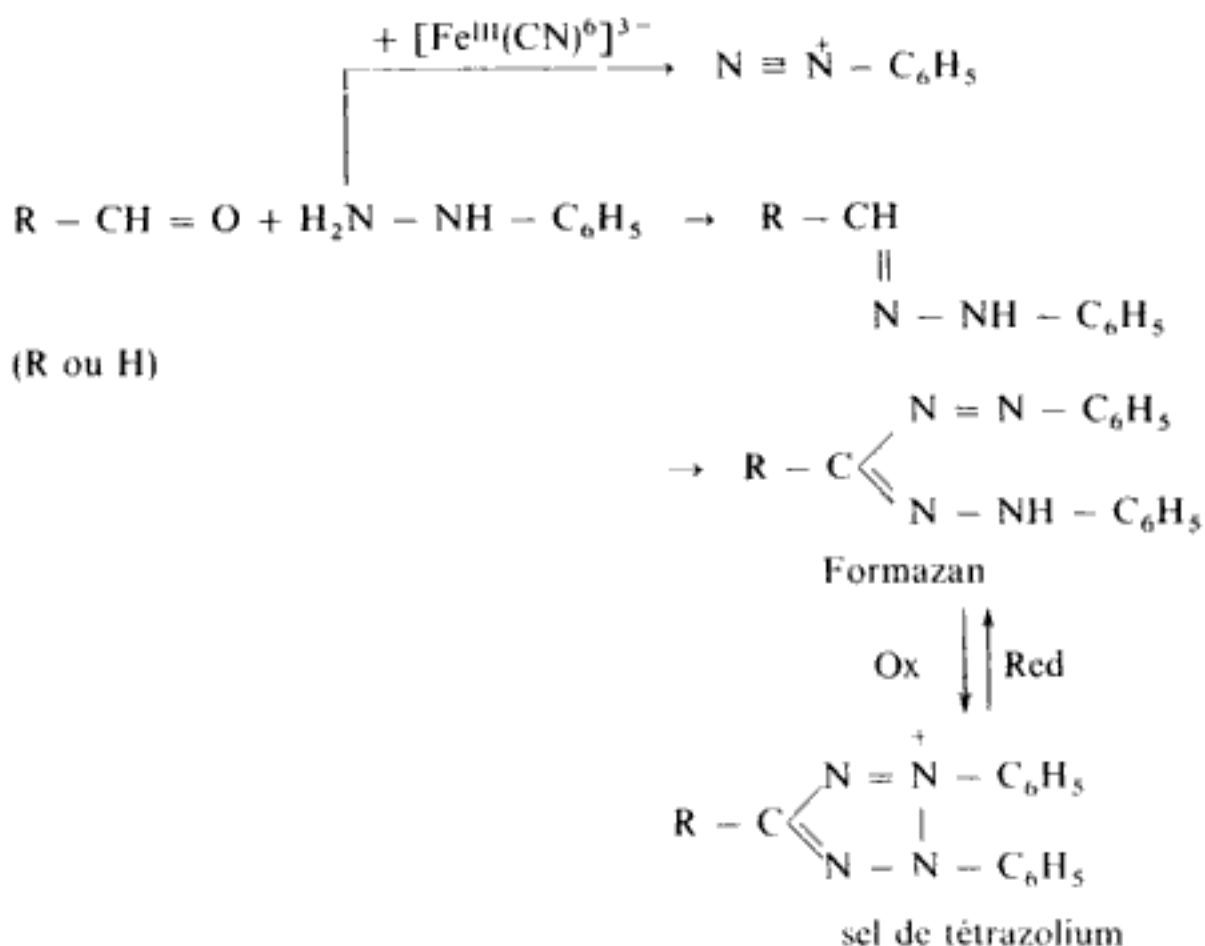
La formation d'indophénols est appliquée à la détection et au dosage des dérivés du type R ou Ar—N=N⁺=O par réaction avec un dérivé phénolique selon un même mécanisme que la réaction de Libermann.

La colorimétrie des amines secondaires rentre dans le cadre de cette réaction, après leur transformation dans un premier temps en nitrosamine sous l'action de l'acide nitreux.

Le dosage de traces d'ammoniaque après action d'un réactif phénol-hypochlorite est à rapprocher de la formation d'indophénols.

Formation de formazans. — La réaction des arylhydrazones d'aldéhydes sur les sels de diazonium (réaction de Schryver) illustre particulièrement les possibilités qu'offre le couplage des réactions des groupements fonctionnels pour le dosage de traces de composés organiques.

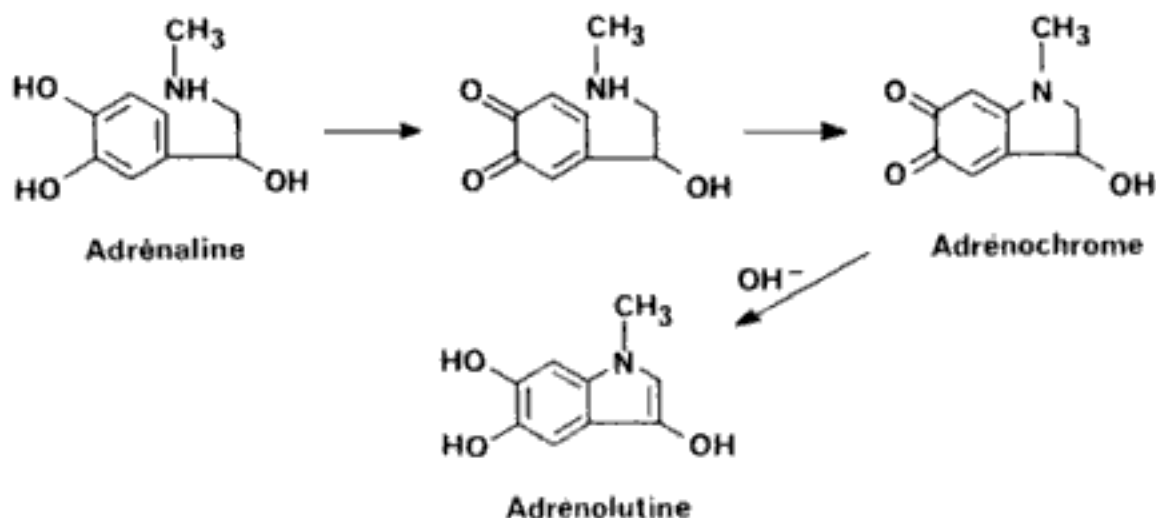
La réaction procède en deux temps : formation d'une phénylhydrazone du formaldéhyde puis oxydation de l'excès de réactif par les ions ferricyanure avec formation d'un phényldiazonium. Le diazoïque et l'hydrazone réagissent ensuite avec formation d'un formazan coloré.



La réaction est en particulier applicable au dosage de traces de formaldéhyde ainsi qu'à celui des composés organiques qui par réaction chimique libèrent dans un premier temps quantitativement l'aldéhyde formique.

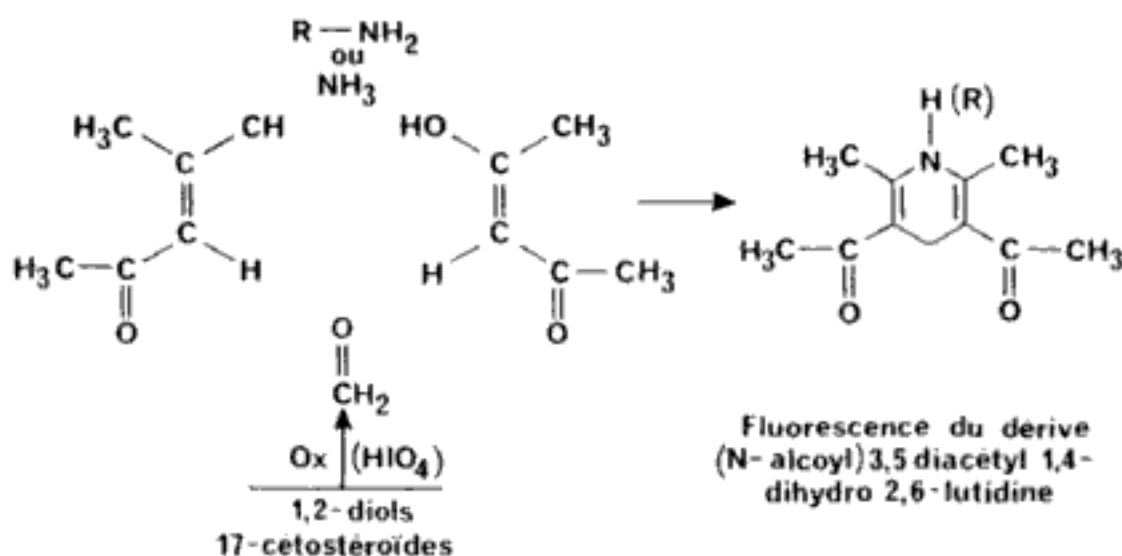
D'autre part, la réduction des sels de tétrazolum incolores en formazans colorés est à la base du dosage de composés organiques variés oxydables par le réactif. Aussi, l'oxydation des cétols stéroïdes par le chlorure de triphényl-tétrazolum autorise leur dosage colorimétrique.

Formation de dérivés fluorescents. — Certains composés non fluorescents peuvent à l'aide d'une réaction chimique convenable former un dérivé fluorescent par hétérocyclisation à l'oxygène ou à l'azote qui permet leur dosage (v. p. 144).

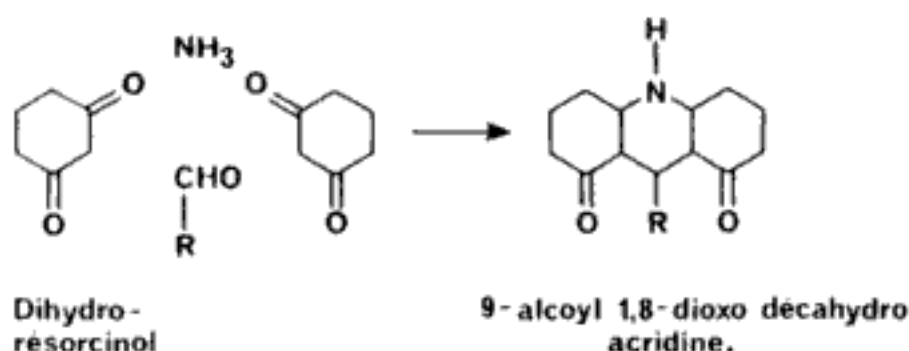


Formation de dérivés fluorescent ou absorbant dans le visible et l'ultra-violet. — La réaction de Hantzsch qui conduit aux dérivés de la dihydropyridine par action du formaldéhyde et de l'ammoniac sur les β dicétones et esters β dicétoniques illustre particulièrement les multiples possibilités d'application des réactions des fonctions à des méthodes spectrophotométriques dans le visible et l'ultraviolet ou fluorimétriques. Ainsi avec l'acétylacétate d'éthyle ou la pentanedione-2,4 (acétylacétone), la réaction développe une fluorescence bleue pratiquement sélective du formaldéhyde et des composés qui donnent quantitativement du formaldéhyde par oxydation periodique tels que les diols-1,2, les α aminoalcools primaires, les cétol-17 stéroïdes.

En utilisant dans la réaction avec l'acétylacétone et le formaldéhyde, une alkylamine primaire au lieu de l'ammoniac, la fluorescence jaune des N-alcoyl diacétyl-3,5 dihydro-1,4 lutidines formées autorise le dosage de traces (1 à 10 μg) d'alkylamines primaires ou d' α aminoacides.



Les aldéhydes aliphatiques y compris le formaldéhyde, forment avec la cyclohexanedione-1,3 (dihydrorésorcinol) des dérivés alcoyl-9 dioxo-1,8 décahydroacridines dont la spectrofluorimétrie est à l'échelle de 0,2 à 3 μg . Cette réaction est applicable au dosage fluorimétrique des pentoses deshydratés en furfural ou des alcools oxydés en aldéhydes.



RÉACTIONS INDICATRICES. — La dérivation des groupements fonctionnels avec formation de composés absorbant dans le visible ou l'ultraviolet a été indiquée précédemment.

Réactif dinitré. — Une même réaction colorée ou d'absorption dans l'ultraviolet peut connaître des applications multiples. La colorimétrie des dérivés dinitrés en solvant organique et en présence de méthylène actif en milieu alcalin déjà mentionné est applicable au dosage de divers types de molécules selon le réactif utilisé (v. p. 243).

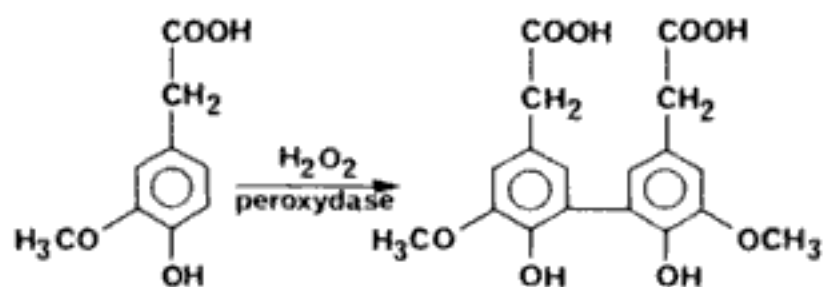
- dinitro-2,4 chloro (ou fluoro) benzène : réactif des amines primaires;
- dinitro-3,5 chlorure de benzoyle : réactif des alcools;
- dinitro-2,4 phénylhydrazine : réactif des fonctions carbonylées, etc...

Méthodes d'analyse enzymatique. — Les méthodes d'analyse enzymatique impliquent l'emploi d'une réaction indicatrice.

Les procédés reposent sur la réaction de l'enzyme avec formation d'un composé qu'une réaction chimique transforme en un dérivé absorbant dans l'ultraviolet ou le visible, ou fluorescent. Ainsi la formation de peroxyde d'hydrogène sous l'action d'oxydases appropriées est appliquée au dosage de substrats variés :

- glucose/glucose-oxydase;
- xanthine, hypoxanthine/xanthine-oxydase;
- benzylamine, tyramine, histamine/monoamine-oxydase.

Par exemple, le peroxyde d'hydrogène en présence de peroxydase, oxyde l'orthodianisidine en un composé dont l'intensité de coloration est proportionnelle à la concentration en glucose; de même, l'oxydation par le système peroxyde d'hydrogène peroxydase de l'acide homovanillique avec formation du composé autorise le dosage spectrofluorimétrique du glucose.



CHAPITRE XIV

ANALYSE DES FONCTIONS PHÉNOLIQUES ET AMINÉES

Une étude complète de l'analyse organique fonctionnelle devrait comprendre la description systématique des méthodes d'identification et de dosage des principales fonctions : éthyléniques, acétyléniques, hydroxylées (alcools et phénols), carbonylées, acides carboxyliques et dérivés, fonctions azotées, sulfurées, etc... Une telle étude ne peut être entreprise dans le cadre du cours de chimie analytique; elle a été volontairement limitée aux principales méthodes d'analyse des fonctions phénol et amine en raison de leur importance dans l'analyse des médicaments. On notera d'ailleurs que certaines méthodes d'analyse de ces fonctions ont été développées dans d'autres parties du cours ou dans les méthodes générales d'analyse fonctionnelle : par exemple — acétylation des fonctions hydroxylées, fixation d'halogène sur les liaisons éthyléniques, protométrie des acides et des bases, etc...

FONCTION PHÉNOL

L'identification, la différenciation et le dosage des molécules phénoliques tiennent une place importante dans le cadre de la chimie analytique organique; leurs propriétés antiseptiques aromatiques ou antioxydantes justifient leur emploi dans des domaines d'application très variés : médicaments, aliments, parfums et arômes, cosmétiques, etc...

Méthodes volumétriques et gravimétriques

Le dosage des composés phénoliques isolés est effectué à l'aide d'un certain nombre de méthodes déjà évoquées :

- protométrie en solvant basique;
- propionylation.

La formation de dérivés bromés mérite une attention particulière. Les procédés reposent sur l'action oxydante et bromante du brome Br^0 généré en

excès connu au moyen d'une solution titrée de bromate de potassium selon la réaction :

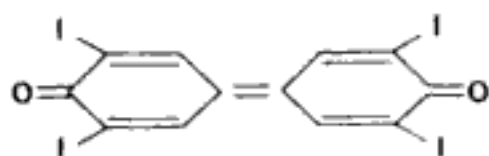


Après réaction, l'excès de brome oxyde les iodures en iode titré par le thiosulfate de sodium. Le procédé n'est pas général; la fixation du brome dépend en effet :

- de la nature de la molécule qui conduit à un dérivé tribromé (phénol), dibromé (esters salicyliques);
- de la concentration du brome en excès qui agit sur la cinétique de la réaction;
- de la durée de contact.

Les conditions opératoires doivent donc être précisées dans chaque cas particulier.

L'iode agit en milieu alcalin comme oxydant et iodant; la réaction aboutit par exemple avec le phénol ou l'acide salicylique à la formation de tétra-iododiphénylène-quinone insoluble dans l'eau; le coefficient de transformation très avantageux permet dans de nombreux cas un dosage gravimétrique.



Méthodes spectrophotométriques

Absorption dans l'ultraviolet. — La spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet ne constitue pas en elle-même un procédé d'identification spécifique des molécules phénoliques; elle contribue seulement dans un ensemble de méthodes à l'identification. Elle est facilement utilisable pour le dosage de traces de dérivés phénoliques après séparation préalable des interférences.

La longueur d'onde du maximum d'absorption et l'absorbance des composés phénoliques dépendent du *pH* des solutions, l'ionisation de la fonction phénol exerçant un effet bathochrome; en outre, les autres substituants selon leur nature et leur position exercent des effets bathochromes ou hypsochromes sur les longueurs d'ondes des maximums d'absorption ainsi que des effets hyper ou hypochromes sur les absorbances.

— Ces propriétés rendent nécessaires d'indiquer avec précision le *pH* des solutions soumises à la lecture spectrophotométrique.

— Dans la pratique il est avantageux de tracer le spectre des composés phénoliques en milieux aqueux ou hydroalcoolique :

- 0,1 N d'acide chlorhydrique : forme molarisée de la molécule phénolique;
- 0,1 N d'hydroxyde de sodium : forme ionisée de la molécule phénolique.

On obtient ainsi deux tracés différents par leurs maximums et minimums et améliore ainsi la sélectivité sinon la spécificité de l'identification.

Colorimétrie des phénols. — Plusieurs méthodes colorimétriques applicables aux phénols ont été décrites dans les méthodes générales :

- Diazocopulation;
- Formation d'indophénols avec divers réactifs : (amino-4 phénazone, dichloroquinonechlorimine, acide sulfurique nitreux, réactif de Millon...).

D'autres réactions peuvent être ajoutées :

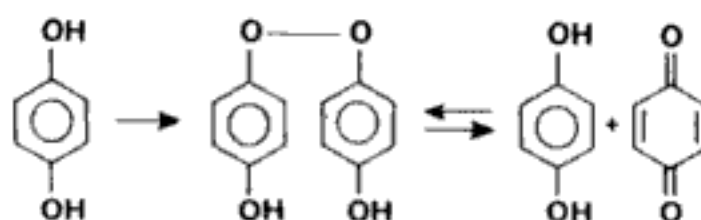
- Les domaines d'application des réactions employées ne sont pas identiques; le couplage de plusieurs réactions peut aussi permettre de différencier des composés phénoliques.
- Ces réactions colorées sont applicables :
 - au dosage de traces de composés phénoliques directement ou après extraction;
 - à leur détection sur des chromatogrammes;
 - ou simplement à l'identification rapide des composés.

RÉACTION AVEC LE CHLORURE FERRIQUE. — La coloration obtenue par action des phénols sur le chlorure ferrique en milieu dilué est attribuée à la formation initiale d'un ion complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OAr})_3]$.

La coloration et son intensité varient avec les phénols considérés et le milieu réactionnel : acidité et solvant.

La coloration observée avec le phénol en solution aqueuse disparaît par acidification ou addition d'éthanol. Avec l'acide salicylique, la longueur d'onde du maximum varie avec le solvant (méthanol : 558 nm; *n*-butanol : 538 nm; alcools tertiaires : 480 nm). En général, l'intensité de l'absorbance augmente avec la constante diélectrique du solvant.

La réaction peut conduire à une oxydation qui ne s'arrête pas toujours à un stade intermédiaire. Dans le cas de l'hydroquinol par exemple : (dihydroxy-1,4 benzène) on obtient en milieu plus concentré sous l'action du chlorure ferrique, la quinhydrone qui se dismute en hydroquinol et quinone.



RÉACTIONS D'OXYDORÉDUCTION. — Deux autres types de réactions colorées reposent sur les propriétés réductrices de la fonction phénol; le produit d'oxydation de la molécule phénolique n'est pas toujours connu.

— *Réaction avec le ferricyanure ferrique.* — La coloration est due à la réduction du réactif en ferrocyanure ferrique (bleu de Prusse); la réaction est d'application générale à l'analyse quantitative.

— *Réaction avec les réactifs phosphomolybdiques, phosphomolybdotungstique.* — Dans tous les cas, la coloration bleue obtenue est due à la réduction du réactif et est applicable au dosage des phénols.

L'intensité de la coloration dépend de la composition des réactifs connus sous le nom de réactifs de Folin et dont il existe un très grand nombre de formules.

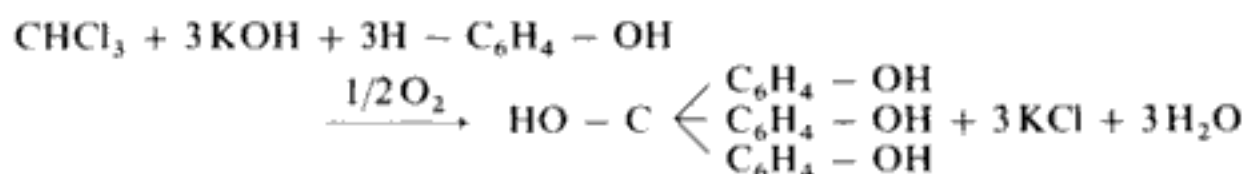
La réaction n'est pas spécifique des phénols.

FORMATION DE PHTALÉINE. — En milieu sulfurique en anhydre, les phénols forment avec l'anhydride phtalique une phtaléine colorée ou fluorescente en milieu alcalin :

- phénol → phénolphtaléine
- thymol → thymolphtaléine
- résorcinol → fluorescéine, etc...

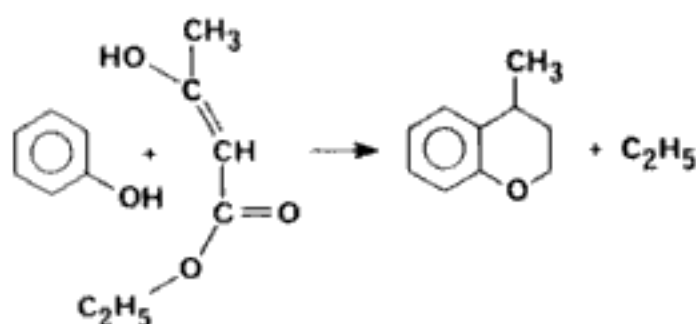
La réaction est utilisée seulement en analyse qualitative. De nombreuses phtaléines sont employées comme indicateurs de protométrie.

FORMATION DE DÉRIVÉS D'ARYLMÉTHANE. — Les dérivés trihalogénés du méthane forment avec les phénols en milieu alcalin des dérivés du triphénylméthane colorés et utilisés pour l'identification



La condensation des aldéhydes sur les phénols est à l'origine de nombreux procédés de caractérisation des fonctions phénol. Il se formerait des dérivés du diarylméthane oxydés en composés quinoniques colorés. Aux réactions de ce type correspond l'emploi des réactifs sulfo-formolé, sulfo-vanillique, sulfo-furfuralique, méthylglyoxal sulfurique, sulfoglyoxylique, etc...

FLUORIMÉTRIE DES PHÉNOLS. — Peu de réactions aboutissent à partir des phénols à des dérivés fluorescents. Toutefois, la condensation des phénols avec l'acétylacétate d'éthyle en milieu acide sulfurique aboutit à un dérivé de la coumarine de fluorescence bleue à bleu vert. La réaction est applicable à la détection et au dosage de quelques monophénols (phénol, gaïacol) et diphénols.



FONCTION AMINE

L'analyse de la fonction amine a pour objet l'identification et le dosage de la fonction, la différenciation des trois classes d'amines primaire —NH_2 , secondaire >NH , tertiaire >N , auxquelles s'ajoute la fonction ammonium quaternaire $\text{>N}^+\text{<}$, ainsi que la différenciation des amines aliphatiques, aromatiques ou hétérocycliques.

L'analyse fonctionnelle des amines est particulièrement vaste; elle a été limitée aux méthodes les plus couramment utilisées pour l'identification et le dosage.

Réactions analytiques de l'azote basique

Les propriétés de la fonction amine sont données par la structure de l'atome d'azote qui renferme trois électrons assurant *les liaisons de covalence et un doublet libre* qui lui confère en particulier sa basicité. La basicité dépend de la nature des substituants et du nombre d'atomes d'hydrogène substitués. Les amines secondaires sont des bases plus fortes que les amines primaires et tertiaires; les amines aliphatiques de faible poids moléculaire sont des bases plus fortes que l'ammoniaque et sont de ce fait titrables en solutions aqueuse. Les amines aromatiques sont insolubles dans l'eau, titrables seulement dans des solvants acides tels que l'acide acétique (voir méthodes générales).

Les trois classes d'amines et les ammoniums quaternaires forment des sels peu solubles tels que les picrates qui se prêtent à l'identification par détermination du point de fusion. La formation de tétraphénylborates $[(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}^-]$ est souvent applicable au dosage des amines et des ammoniums quaternaires. Le tétraphénylborate d'amine précipité est redissous dans l'acide acétique anhydre et titré comme base dans ce solvant. L'aptitude à la précipitation quantitative des tétraphénylborates dépend du poids moléculaire, de la classe d'amines; la présence de fonctions hydrophiles dans la molécule d'amine augmente la solubilité des tétraphénylborates.

Parmi les complexes insolubles les plus couramment utilisés pour l'identification et éventuellement le dosage gravimétrique ou volumétrique des amines figurent : les periodures, les sels complexes d'or ou de platine, les iodomercures (réactif de Nessler), les silico-tungstates, reineckates, iodobimuthites (réactif de Draggendorf).

La formation de paires d'ions extractibles par un solvant non miscible en milieu aqueux réactionnel est largement mise à profit pour le dosage titrimétrique ou colorimétrique des composés à fonction amine. L'emploi des réactifs anioniques à longue chaîne (laurylsulfate, dioctylsulfosuccinate) ou de colorants anioniques (tropeoline 00, érythrosine, noir ériochrome, etc...) a été indiqué précédemment (v. Tome II p. 50).

Réactions analytiques des amines primaires et secondaires

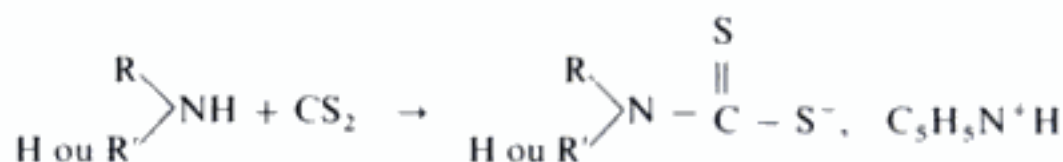
Alkylation (dinitro-2,4 fluoro ou chlorobenzène), voir méthodes générales.

Acylation : Propionylation, voir méthodes générales.

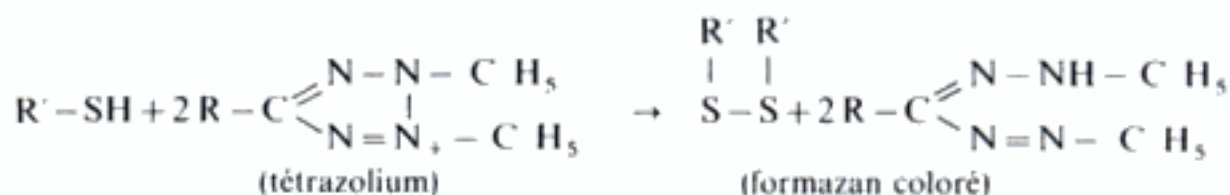
Action du sulfure de carbone. — Les amines primaires et secondaires forment avec le sulfure de carbone un acide dithiocarbamique.

La réaction est appliquée selon plusieurs modalités :

— En solvant pyridine titrage de l'acide dithiocarbamique formé (protométrie par transformation).



— Colorimétrie des amines primaires et secondaires.



— Colorimétrie des amines secondaires.

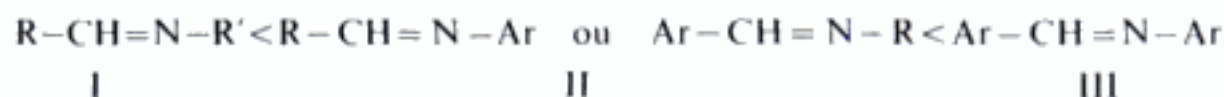
Les acides dithiocarbamiques dérivés des amines secondaires forment un chélate coloré avec les ions Cu^{2+} .

**Réactions analytiques des amines primaires :
formation d'imines**

La réaction des amines primaires sur les aldéhydes conduit aux imines ou bases de Schiff.



Les imines sont des bases plus faibles que les amines et leur basicité diminue selon que l'aldéhyde et l'amine sont aliphatiques (R) ou aromatiques (Ar) :



La réaction donne lieu à divers types d'application :

DOSAGE DES ACIDES α AMINÉS. — En solution aqueuse, l'addition de formaldéhyde à un acide α aminé (v. Tome I p. 89) affaiblit la fonction basique de l'amphotère par formation de base de Schiff et éventuellement de produits de réactions secondaires; la fonction acide carboxylique devient ainsi directement titrable par potentiométrie ou en présence d'indicateurs type phénolphtaléine

virant dans la zone de pH supérieure à 7; cette méthode de Sørensen dite « *formol-titration* » n'est pas applicable à tous les amino-acides.

— **PROTOMÉTRIE EN MILIEU NON AQUEUX.** — En solvant acide acétique, les imines du type I régénèrent l'amine originelle du titrage. En solvant méthanol, les bases de Schiff des types II et III sont des bases plus faibles que les amines. Cette propriété permet le titrage différentiel des fonctions amine primaire et secondaire d'un mélange :

— un premier titrage en solvant méthanol donne la basicité totale;
 — un deuxième titrage après réaction préalable avec un aldéhyde aromatique mesure la basicité résiduelle correspondant à la fonction amine secondaire.

— **COLORIMÉTRIE.** — Les condensations des amines primaires avec un aldéhyde aromatique (diméthylamino-4 benzaldéhyde ou diméthylamino-4 cinnamaldéhyde) conduit à des bases de Schiff qui permet un dosage colorimétrique de faibles quantités.

Dosage différentiel d'un mélange d'amines primaires, secondaires et tertiaires

Le couplage de la protométrie directe et après transformation permet de résoudre le cas particulier du titrage des amines dans un mélange renfermant une amine primaire (a), secondaire (s) et (tertiaire (t)) (v. Tome I p. 88).

Trois titrages successifs peuvent être réalisés :

1^o En solvant acide acétique : le titrage protométrique dose la basicité totale $a + s + t$.

2^o En solvant pyridine après action de CS_2 : le titrage des acides dithiocarbamiques correspond aux amines $a + s$.

3^o En solvant pyridine, après action d'un aldéhyde aromatique (aldéhyde anisique) qui forme la base de Schiff de l'amine primaire, puis de CS_2 , le titrage de l'acide dithiocarbamique correspond à la seule amine secondaire s .

Un calcul simple donne les concentrations de chacune des amines présentes.

Action de l'acide nitreux

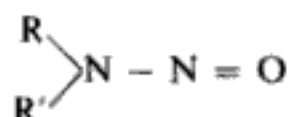
L'acide nitreux (nitrite de sodium en milieu chlorhydrique) agit différemment sur les amines.

Amines primaires aliphatiques. — Les amines primaires aliphatiques sont décomposées par l'acide nitreux selon



La réaction est utilisée par mesure gazométrique de l'azote dégagé (Van Slyke).

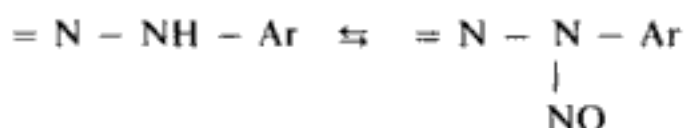
Amines secondaires. — La formation de N-nitrosamines



rentre dans le cadre de la formation d'indophénols colorés.

Amines aromatiques. — Voir réaction de diazocopulation, dosage de l'azote aminé primaire aromatique (p. 251).

La formation du sel de diazonium par action d'une solution titrée de nitrite de sodium sur une amine aromatique en solution chlorhydrique est à la base de leur titrage par potentiométrie à intensité imposée. La réaction est catalysée par le bromure de sodium. On peut également déceler le point d'équivalence au moyen d'un indicateur coloré tel que l'orangé IV (tropeoline 00). Ce colorant azoïque rose violacé en milieu acide vire au jaune avec un léger excès d'acide nitreux, par formation d'un dérivé nitrosé selon le schéma réversible.



Réactions diverses

Quelques réactions sont mentionnées en raison de leurs applications assez fréquentes.

Réaction au nitroprussiate de sodium. — Les amines aliphatiques primaires en présence d'acétone et en milieu alcalin, donnent une coloration violette; les amines aliphatiques secondaires donnent également une coloration en utilisant l'acétaldéhyde au lieu de l'acétone.

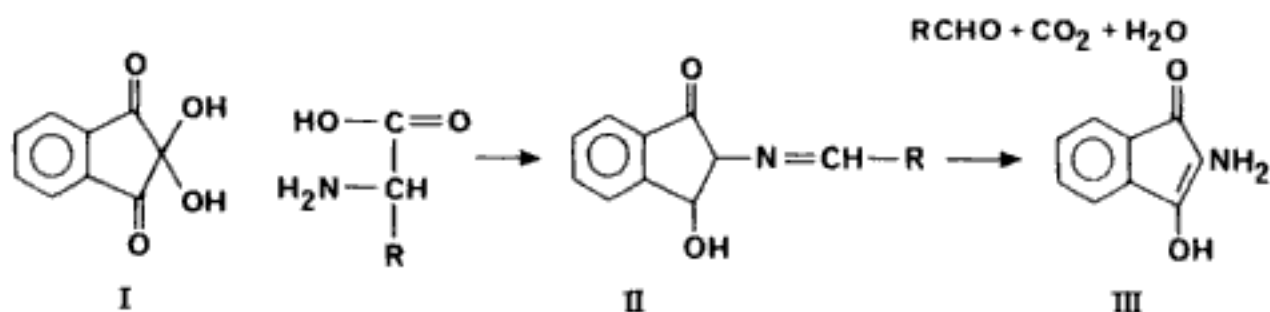
Le mécanisme n'est pas connu et les réactions ne sont pas spécifiques.

Réaction avec l'acide ascorbique. — L'ammoniaque, les amines primaires et notamment les acides α aminés réagissent avec l'acide ascorbique en solvant diméthylformamide pour former un composé coloré. Le mécanisme de la réaction n'est pas complètement élucidé; la réaction néanmoins sensible et fidèle se prête facilement au dosage des α amino-acides.

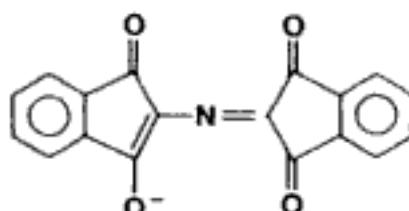
Réaction avec la ninhydrine. — La réaction avec la ninhydrine (I) ou hydrate de tricétohydrindène est l'une des réactions les plus couramment utilisées pour l'identification et le dosage des acides α aminés. La coloration violette obtenue

est due à l'anion hydrindylidène-dicétohydrindamine IV (Pourpre de Ruhemann) formé selon un mécanisme complexe dont quelques étapes sont connues.

- Formation d'imine et hydrolyse (II) et (III).



- Oxydo-réduction entre (I) et (III) aboutissent finalement à (IV).



Du fait de la complexité du mécanisme, la fiabilité de la réaction à la ninhydrine et la précision des résultats dépendent très étroitement des conditions opératoires. En particulier, si la réaction constitue un excellent moyen de révélation des acides aminés sur les chromatogrammes, l'élution des taches colorées et la mesure de l'absorption conduisent à des résultats d'une précision illusoire. De plus, la réaction à la ninhydrine n'est pas spécifique des acides aminés.

Conclusion de l'analyse organique fonctionnelle

L'exposé des principales méthodes générales d'analyse organique fonctionnelle ainsi que de quelques méthodes d'identification et dosage des composés organiques phénoliques ou aminés fait apparaître quelques conclusions générales. L'analyse fonctionnelle n'a pas pour objectif d'établir la structure des molécules qui est obtenue rapidement à l'aide des méthodes physiques et plus particulièrement spectrales d'analyse. Son rôle se situe au niveau des études de développement et des applications. Avec l'emploi de solvants variés directement ou après transformation chimique, l'analyse fonctionnelle bénéficie des méthodes électrochimiques d'analyse. Dans le domaine de la spectrophotométrie dans l'ultraviolet, le visible et de la **spectrofluorimétrie**, l'analyse dispose maintenant de réactions à mécanisme connu qui remplacent avantageusement des réactions empiriques souvent peu fiables; l'aperçu que donnent les exemples décrits dans le cours, met en évidence l'intérêt et le rôle de l'analyse fonctionnelle dans les divers domaines d'application de la chimie analytique.

INDEX ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES

Les nombres renvoient aux pages

A

Absorbance, 10.
Absorption atomique (spectrométrie d'), 39.
Analyse fonctionnelle, 245.

- infrarouge, 82.
- RMN, 177.

Analyse quantitative

- infrarouge, 95.
- U.V. visible, 125.
- RMN, 186.

Analysateur (spectrométrie de masse), 214.
Anisotropie magnétique, 181.
Arc (spectrométrie d'), 35.
Auto absorption, 20.
Azote (dosage d'), 231.

B

Bathochrome (effet), 111.
Beer Lambert (loi de), 10.

- largeur des raies, 18.

Blindage, 182.
Boltzmann (loi de), 18, 161.
Bombardement par atomes accélérés (FAB) 211.
Born-Oppenheimer (approximation de), 60.

C

Carbone (dosage), 231.
Cathode creuse (lampes à), 43.

Champ magnétique efficace RMN, 166.
Complexes de terres rares (RMN), 183.
Constante d'écran, 167.
Correcteur de fond spectral, 47.
Cotton (effet), 196.
Couplage chromatographie-spectrométrie de masse, 220.
Couplage en RMN, 170-185.

D

Densité optique, 10.
Déplacement chimique (RMN), 168, 177.
Désorption de champ, 211.
Diazocopulation, 251-265.
Dichroïsme circulaire, 197.
Diffusion (spectres de), 97.
Dispersion rotatoire, 195.
Doppler Fizeau (effet), 19.
Dumas (méthode de), 231.

E

Électrons lents, 210.
Effet dispersif (SAA), 31.
Électrothermiques (Systèmes), 32.
Émission par plasma (spectrométrie), 39.
Énergie électronique, 59, 106.
Énergie moléculaire, 51.

- quantification de, 59, 61.

Étincelle (spectrométrie), 35.
Extinction (coefficient d'), 10.

F

F.A.B., 211.
Fluorescence, 107, 134.
 • polarisation de, 145.
Fluorescence atomique, 48.
Formazans, 254.
Fragmentométrie, 228.
Four (SAA), 32.
Fourier (transformée de), 12.

G

Gyromagnétique (rapport), 154.

H

Halochromie, 122.
Halofluorie, 144.
Halogènes (dosage des), 234.
Hantzsch (réaction de), 144, 255.
Harmoniques (vibrations), 77, 85, 89, 95.
Hétérocyclisation, 144.
Hydrogène (dosage), 231.
Hydrogène mobile, 245.
Hyperchrome (effet), 111.
Hypochrome (effet), 111.
Hypsochrome (effet), 111.

I

Inhibition de fluorescence (Quenching), 142.
ICPMS, 212.
ITD, 218.
Indo phénols, 253.
Ions métastables, 213.
Ion moléculaire (spectrométrie de masse), 200.
Ions négatifs (spectrométrie de masse), 209.
Ion radical, 200.
Ionisation, 16, 27.
 • potentiel de, 17.
Ionisation chimique, 208.

K

Kjeldahl (méthode de), 232.

L

Lampes à cathode creuse, 43.
Lampes sans électrode, 45.
Largeur des raies, 19 (en SAA), 163 (en RMN).
Larmor (récession de), 155.
Lasers, 11, 34.
Lorentz (effet), 19.

M

Masse réduite, 65, 72, 83.
Micro-ondes (spectres de), 63.
Micro sonde Raman, 105.
Mike, 220.
Morse (courbe de), 76, 136.
Multiplicité des raies, 14.

N

Nébulisation, 28.
Nombres quantiques, 5, 67, 74.

P

Parr (bombe de), 235.
pH (et fluorescence), 144.
Phénols (dosage des), 258.
Phosphorescence, 107.
Photométrie de flamme, 37, 40.
Plasma, 34, 39, 212.
pK (détermination spectrophotométrique), 126.
Polarimétrie, 194.
Polarisabilité, 100.
Polarisation de fluorescence, 145.
Pouvoir rotatoire spécifique, 195.
Précession (mouvement de), 155.
Proton (RMN du), 165.
Proche infrarouge, 95.

R

Réflexion totale atténuée (en infrarouge), 93.
Réfractomètre, 191.
Règles de sélection, 13.
Relaxation (en RMN), 161.
R.M.N., 165.
R.P.E., 188.
Résonance (raie de), 14.
Résonance cyclotronique, 218.
Résonance magnétique, 158.
• spectrométrie de, 152.
Rotation (énergie de), 52, 63.
• spectres de, 67.

S

Saturation (temps de), 162.
Schöniger (méthode de), 234.
Solvants
• en spectrométrie UV, 119, 123.
• en RMN, 170.
Soufre (dosage de), 235.
Spectres d'absorption, 7, 22.
Spectres atomiques, 13.
Spectres de bandes, 7.
Spectres électroniques, 106, 251, 259.
Spectres d'émission, 7, 22.
Spectres de fluorescence, 9, 135.
Spectres infrarouges, 70.
Spectres de masse, 199.
Spectres moléculaires, 51.
Spectres de raies, 7, 13.
Spectre Raman, 9, 97.
Spectrofluorimétrie, 134, 242, 255.
Spectromètres de masse, 198.
• couplage (CPG), 220.
Spectrométrie d'émission par plasma, 39.
Spins, 6, 152.
• couplage, 170.

• découplage, 175.

Spectrométrie dérivée, 129.

Stark (effet), 19.

Stokes (raies de), 98, 135.

T

T.M.S. (tétraméthylsilane), 169.
Transitions électroniques (règles de sélection), 13, 111.
Transformée de Fourier, 12.
Transitions spectrales, 4.
Translation (énergie), 52.

U

Ultra-violet (spectre), 106, 109.

V

Vapeur atomique, 23, 41.
• sans flamme, 32.
Vibration (énergie de), 53, 70.
• vibrations normales, 54.
• symétriques et asymétriques, 54, 86.
• de déformation, 55.
• de valence, 55, 83.
Vibration-rotation (énergie et spectre), 82.

W

Woodward (règles de), 115.

Z

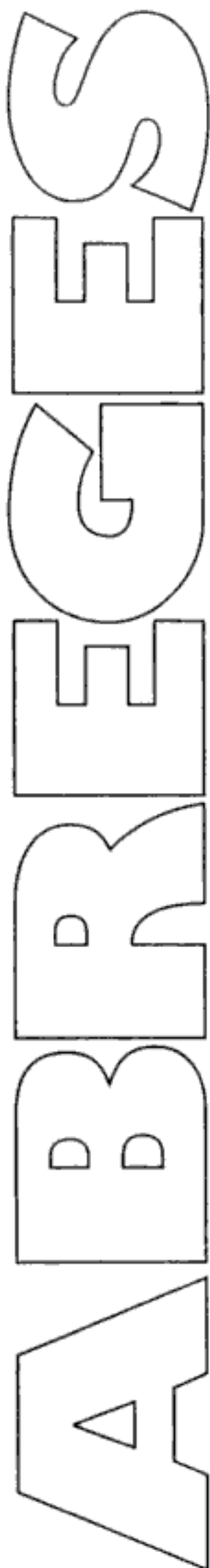
Zeeman (effet), 47.

Zerewitinoff (test de), 245.

583198 - (V) - (0,6) - OSB-A 80° - SNE

MASSON Éditeur
120, boulevard Saint-Germain
75280 Paris Cedex 06
Dépôt légal : février 2002

Achevé d'imprimer sur les presses
de la SNEL S.A.
Rue Saint-Vincent 12 - B-4020 Liège
tél. 32(0)4 344 65 60 - fax 32(0)4 341 48 41
février 2002 - 23858



Anatomie et physiologie humaines.

Tome 1. – par Jean-Claude Gounelle, J.-M. Meunier et A. Gairard. 2^e éd. 1989.

Tome 2. – par Y. Raoul en collaboration avec A. Gairard. 5^e éd. 1983.

Biochimie structurale et métabolique, par François Percheron, Roland Perlès et Marie-José Foglietti.

Tome 1. – Bioénergétique, protides, enzymologie, acides nucléiques. 3^e éd. 1991.

Tome 2. – Chromoprotéides. Glucides. Glycoprotéines. Lipides. Oxydations biologiques. Interrelations métaboliques. 3^e éd. 1994.

Botanique, par Jean-Louis Guignard. 11^e éd. révisée. 1998.

Chimie analytique.

Tome 1. – Chimie des solutions, par Michel Guernet et Michel Hamon. 2^e éd. 1992.

Tome 2. – Méthodes de séparation, par Georges Mahuzier et Michel Hamon. 2^e éd. révisée et augmentée. 1993.

Tome 3. – Méthodes spectrales et analyse organique, par Michel Hamon, Fernand Pellerin, Michel Guernet et Georges Mahuzier. 2^e éd. révisée et augmentée. 1993.

Chimie organique, par Marcel Miocque, Claude Combet Farnoux et Henri Moskowitz.

Tome 1. – Généralités. Série aliphatique. Biomolécules. 5^e éd. 1997.

Tome 2. – Série cyclique. Biomolécules. 3^e éd. 1990.

Chimie physique, par Ph. Courrière. 2^e éd. 1996.

Conseils à l'officine, par J.-P. Belon. 3^e éd. 1998.

Cryptogamie, par Philippe Bouchet. 1979.

Droit et déontologie du laboratoire d'analyses de biologie médicale (2), par Monique Tisseyre-Berry. 1980.

Évolution de l'organisation animale, par J. Bailenger. 2^e éd. 1995.

Initiation à la connaissance du médicament, par Jean-Marc Aiache et R. Renoux. 2^e éd. 1995.

Législation et déontologie pharmaceutiques, par Monique Tisseyre-Berry. 3^e éd. 1983.

Législation et réglementation du laboratoire d'analyses de biologie médicale, par J. Fernandez, H. Mion, J. Monleaud. 1996.

Matière médicale (pharmacognosie), par Michel Paris et Monique Hurabielle.

Tome 1. – Généralités. Monographies (1^{re} partie). 1981.

Tome 2. – Monographies (2^e partie). 1986.

Mycologie générale et médicale, par Philippe Bouchet, Jean-Louis Guignard, Geneviève Madulo-Leblond et Patrick Régli. 1989.

Pharmacie galénique, par Alain Le Hir. 7^e éd. 1997.

Pharmacocinétique, par J.-P. Labaune. 1989.

Pharmacologie, par Yves Cohen. 4^e éd. 1997.

Physique et biophysique pharmaceutiques, par Ph. Courrière.

Tome 1. – Électricité, magnétisme, optique. 1990.

Tome 2. – Biophysique sensorielle, biophysique de la matière, physique nucléaire. 1990.

Phytochimie, par Jean-Louis Guignard, Louis Cosson et Max Henry. 1985.

Chimie analytique

3 méthodes spectrales et analyse organique

M. HAMON / F. PELLERIN
M. GUERNET / G. MAHUZIER

L'ouvrage

- La chimie analytique fait l'objet de trois tomes dans la collection des Abrégés. Ce troisième tome traite des méthodes spectrales et de l'analyse organique.
- Cet ouvrage présente clairement :
 - les principales méthodes spectrophotométriques utilisées en analyse pharmaceutique, biologique et alimentaire ; l'utilisation des spectres moléculaires ; les données essentielles sur les méthodes optiques non spectrales ;
 - deux méthodes spectrales non optiques : les spectrométries de résonances et la spectrométrie de masse ;
 - l'analyse organique élémentaire et fonctionnelle.

Le public

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants de deuxième et troisième cycles des facultés de pharmacie et de médecine. Les étudiants en maîtrise de sciences biologiques le consulteront avec profit.

L'auteur

Michel Hamon, Ferdinand Pellerin, Michel Guernet et Georges Mahuzier sont tous les quatre professeurs de chimie analytique à l'université de Châtenay-Malabry (Paris-Sud).

Les autres tomes de chimie analytique sont :

- *Chimie analytique Tome 1 : Chimie des solutions*
- *Chimie analytique Tome 2 : Méthodes de séparation*

ISBN 2-225-83507-1



Copyrighted material